

IDENTIFIKATION IMMUNKOMPETENTER ZELLEN
SOWIE DER NACHWEIS DER
KOMPLEMENTKOMPONENTE C 4 IM
NIERENGeweBE MIT HILFE MONOKLONALER
ANTIKÖRPER

MARIA - CHRISTINA JUNG

1987

Disbui. München





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554617_0092



Aus dem Immunologischen Institut der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Gert Riethmüller

und der

Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Eberhard Buchborn

IDENTIFIKATION IMMUNKOMPETENTER ZELLEN
SOWIE DER NACHWEIS DER KOMPLEMENT-
KOMPONENTE C 4 IM NIERENGeweBE MIT HILFE
MONOKLONALER ANTIKÖRPER

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Maria-Christina J u n g

aus

Kassel

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. G. Riethmüller
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Dr. h.c. Brendel Prof. Dr. E. Buchborn
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. H. Feucht
Dekan:	Prof. Dr. Dr. h.c. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	03. 12. 1987

Meinem Vater,

in Erinnerung an meine Mutter

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. H. Feucht, der neben seiner anspruchsvollen klinischen Tätigkeit noch Zeit für eine geduldige und verständnisvolle Betreuung fand.

Frau A. Brase, Frau J. Döhrmann und Frau S. Wirth schulde ich Dank für viele praktische Hilfestellungen und das angenehme Arbeitsklima.

Als unabhängiger Untersucher bei der quantitativen Auswertung der Präparate hat sich dankenswerterweise mein 'Mitstreiter', Herr Christian Schaller, zur Verfügung gestellt.

Herrn Professor G. Thoenes gebührt Dank für seine großzügige Unterstützung mit Gewebematerial und immunhistologischen Befunden, sowie die Bereitschaft, jederzeit Probleme zu diskutieren.

Herr Professor J.M. Gokel, Pathologisches Institut der Universität München, scheute nicht die Mühe, noch zu später Stunde histologische Präparate mit auszuwerten. Hierfür bin ich ihm sehr zu Dank verpflichtet.

Herrn Professor G. Riethmüller habe ich nicht nur für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und des Arbeitsplatzes in seinem Institut zu danken, sondern auch für viele konstruktive Anregungen und aufmunternde Worte.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Problemstellung	2 - 4
B. Untersuchungsgut und Methoden	5 - 9
1. Patienten und Gewebematerial	
2. Monoklonale Antikörper	
3. Indirekte Immunperoxidase-Färbung	
C. Ergebnisse	10 - 25
I. Charakterisierung interstitieller Leuko- zyteninfiltrate im Nierengewebe von Patien- ten mit Glomerulonephritis und im gesunden Gewebe einer Kontrollgruppe	
1. Normalniere	
2. Minimal-change-Nephritis	
3. Perimembranöse Glomerulonephritis	
4. Lupus-Erythematodes-Glomerulonephritis	
5. Mesangioproliferative Glomerulonephritis	
5.1 Glomeruläre Zellpopulation	
II. Expression von HLA-DR-Antigenen im Nieren- gewebe	26 - 29
III. Lokalisierung und Verteilung von HLA-DQ- Antigenen im Nierengewebe	30 - 31
IV. Nachweis von Komplement C4 im Nierengewebe	32 - 36
D. Diskussion	37 - 45
E. Zusammenfassung	46
F. Literaturverzeichnis	47 - 54

A. PROBLEMSTELLUNG

Die Glomerulonephritis (GN), als entzündliche, nicht eitrige Nierenerkrankung, bildet mit über 50% der Fälle die häufigste Ursache der dialysepflichtigen, terminalen Niereninsuffizienz. Klinische Symptome, morphologische Veränderungen sowie immunologische Phänomene lassen sich in der Regel nicht korrelieren. Daher gibt es bisher keine Einteilung der verschiedenen GN-Formen, die den Vorstellungen des Klinikers, Pathologen und Immunologen in gleicher Weise entspricht. In Ermangelung einer Klassifizierung nach der Ätiologie ist die morphologische Einteilung der Glomerulonephritisformen in den klinischen Gebrauch übernommen worden. Die Immunhistologie kann das morphologische Bild ergänzen und damit die Glomerulonephritisiadiagnose erweitern. Die Pathogenese der meisten Glomerulonephritiden ist weitgehend ungeklärt.

Tierexperimentelle Untersuchungen, serologische Befunde und der fast regelmäßige Nachweis intrarenaler Immunkomplexe haben dazu geführt, bestimmten Immunmechanismen eine entscheidende Rolle in der Entstehung der meisten Glomerulonephritiden zuzuordnen.

Generell werden zwei Immunmechanismen unterschieden: Beim Typ der sogenannten Antibasalmembrannephritis reagieren Antikörper gegen eine antigene Komponente der glomerulären Basalmembran. Diese Antikörperbildung gegen Basalmembranbestandteile kann sowohl endogen als auch exogen induziert werden.

Der häufigere Typ der Immunkomplexnephritis ist durch die Ablagerung zirkulierender Antigen-Antikörperkomplexe im Glomerulus gekennzeichnet. Es können sowohl präformierte als auch 'in situ' gebildete Immunkomplexe glomerulär abgelagert werden, wobei bei letzteren erst eine Reaktion zwischen zirkulierenden freien Antikörpern und einem fixierten glomerulären Antigen zur krankheitsauslösenden Immunkomplexbildung führt. Heterologe und autologe Antigene können an dieser Reaktion beteiligt sein.

Beide Mechanismen verursachen glomerulären Schaden durch die entzündliche Reaktion, die sie üblicherweise durch Komplementaktivierung initiieren.

Diese humoral vermittelten Reaktionen, durch die nur ein Teil der verschiedenen Glomerulonephritiden in ihrer Entstehung zu erklären sind, wurden ausgiebig untersucht und sind in der Literatur gut belegt.

Dagegen wurden zellulären Immunreaktionen bisher wenig Beachtung geschenkt, obwohl die Ergebnisse tierexperimenteller Untersuchungen auf die mögliche Bedeutung immunkompetenter Zellen bei der Glomerulonephritisentstehung hinwiesen. Zum Beispiel sind ausgeprägte Zellenfiltrate nach Zufuhr sowohl heterologer und autologer Antigene gefunden worden (5).

Die Begründung dafür, daß sich nur wenige Arbeiten mit den möglichen zellulären Mechanismen auseinandersetzen, mag in der Schwierigkeit liegen, Leukozyten im Gewebe allein nach morphologischen Kriterien und anderen konventionellen Methoden im Gewebe identifizieren und differenzieren zu können. Dies ist aber als Grundlage für funktionelle Überlegungen notwendig.

Erst durch die Arbeit von Köhler und Milstein 1975 (33) gelang die Bereitstellung geeigneter Reagenzien. Sie fusionierten Plasmazytomzellen mit normalen B-Lymphozyten bekannter Antikörperspezifität in vitro und etablierten das Fusionsprodukt, ein Hybridom, in Langzeitkultur mit hoher Antikörperproduktion. Dadurch war es möglich, monospezifische Antikörper mit hohen serologischen Titern zu produzieren. Heute sind eine Reihe serologisch und biochemisch gut definierter Reagenzien, insbesondere gegen Leukozytendifferenzierungsantigene und Histokompatibilitätsantigene, verfügbar. Mit ihrer Hilfe gelingt die Charakterisierung immunkompetenter Zellen und damit auch der Rückschluß auf etwa bestehende funktionelle Zusammenhänge.

Neben der Untersuchung von leukozytären Infiltraten galt unser Interesse der Identifikation sogenannter Klasse-II-Antigene im Nierengewebe (Histokompatibilitätsantigene), da ihnen eine besondere Rolle bei der Regulation der Immunantwort zukommt.

Ausgehend von der in letzter Zeit häufig beobachteten Assoziation zwischen genetischen Komplementdefizienzen und der Anfälligkeit für Immunkomplexkrankheiten erschien es sinnvoll, der Frage nach der Existenz und gegebenenfalls der Lokalisation von Komplementfaktoren im Gewebe nachzugehen.

Bisherigen Untersuchungsergebnissen zufolge ist besonders das Fehlen der Komplementkomponenten C1 und C4 - beide sind am Weg der klassischen Komplementaktivierung beteiligt - mit dem Auftreten bestimmter Krankheitsbilder assoziiert (36).

Es existieren zwei Gene für C4, C4A und C4B, die innerhalb des Histokompatibilitätskomplexes auf dem kurzen Arm des sechsten Chromosoms lokalisiert sind (10).

Mit den beiden neuen monoklonalen Antikörpern G2B12 und IC4 standen uns erstmals Reagenzien zur Verfügung, mit deren Hilfe die Produkte der beiden Genloci getrennt voneinander im Gewebe dargestellt werden können.

Ziel der vorliegenden Arbeit war daher die Identifikation und Charakterisierung bisher wenig beachteter Leukozyteninfiltrate im entzündlich veränderten Nierengewebe sowie der Nachweis von Komplement C4 mit Hilfe monoklonaler Antikörper.

B. UNTERSUCHUNGSGUT UND METHODEN

1. Patienten und Gewebematerial

Untersucht wurde das Nierengewebe Münchner Patienten, das primär zu diagnostischen Zwecken durch perkutane Biopsie gewonnen wurde. Für die immunhistologischen Methoden wurde das Gewebe schockgefroren und bis zur endgültigen Aufarbeitung bei -80° Celsius eingelagert.

Die zur Diagnose führenden immunhistologischen und histopathologischen Untersuchungen wurden durch Herrn Prof. Dr. Thoenes, Immunbiologisches Labor der Medizinischen Klinik Innenstadt, und Mitarbeitern des Pathologischen Instituts München durchgeführt.

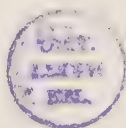
Die Einteilung in Patientengruppen erfolgte nach der histopathologischen Diagnose.

Insgesamt wurde das Biopsiegewebe von 70 Patienten untersucht, quantitativ ausgewertet wurden die Leukozyteninfiltrate im Gewebe von 11 Patienten mit minimal-change-Nephritis, fünf Patienten mit systematischem Lupus-erythematoses, acht Patienten mit perimembranöser Glomerulonephritis und 21 Patienten mit einer mesangio-proliferativen Glomerulonephritis.

Die Expression von Histokompatibilitätsantigenen (HLA-DR, HLA-DQ) wurde im Nierengewebe von 18 (HLA-DR) und 13 (HLA-DQ) Patienten untersucht, deren unterschiedliche histopathologische Diagnose den Tabellen im entsprechenden Ergebnisteil zu entnehmen sind.

Der Nachweis von Komplement C4 wurde im Gewebe von 22 Patienten geführt.

Zum Vergleich diente Nierengewebe, das primär nicht entzündlich verändert war: Die Urologische Klinik Großhadern überließ uns freundlicherweise Material von acht Tumornephrektomien, das makroskopisch und mikroskopisch unauffällig war.



2. Monoklonale Antikörper (MoAk)

Die in der vorliegenden Untersuchung verwendeten monoklonalen Antikörper sind in Tabelle I aufgeführt.

Leukozyten wurden durch den monoklonalen Antikörper T 29/33 erkannt. Er richtet sich gegen das menschliche T-200-Antigen, ein common leucocyte antigen (42).

T-Lymphozyten und ihre Subpopulationen wurden mit Hilfe der MoAk T-1110 (48), Leu3a (18) und T-811 (47) erkannt: Der MoAk T-1110 markiert T-Lymphozyten aller Reifegrade, der MoAk Leu3a die T-Helfer und der MoAk T-811 die zytotoxischen-Suppressor-T-Lymphozyten. Der monoklonale Antikörper LeuM3 (15) reagierte mit Makrophagen.

Zu Beginn der Arbeit verwendeten wir auch noch den MoAk B1, der B-Lymphozyten erkennt. Wegen der zu vernachlässigenden Reaktion und des nur in geringem Umfang vorhandenen Materials wurde der Einsatz dieses Antikörpers zugunsten eines anderen eingestellt.

Die Expression unterschiedlicher Histokompatibilitätsantigene wurde mit Hilfe der monoklonalen Antikörper L243 (anti-HLA-DR) (15) und Tü22 (anti-HLA-DQ) (45) untersucht.

Der Nachweis von Komplementfaktoren erfolgte durch die MoAk 146 (anti-C1q), MoAk 111 und 105 (30) (anti-C3) sowie der MoAk G2B12 (anti-C4B) und IC4 (anti-C4A) (44).

TABELLE I

Bezeichnung, Isotyp, Spezifität und Herkunft der verwendeten
Antikörper

MoAk	Isotyp	Spezifität	Herkunft
T 29/33	IgG2a	Common leucocyte antigen (T200)	Hybritech ¹
T-1110	IgG1	T-Lymphozyten	Rieber ..
Leu3a	IgG1	Helfer-T-Lymphozyten	Becton-Dickinson ²
T-811	IgG1	Suppressor/zytotoxische T-Lymphozyten	Rieber
LeuM 3	IgG2b	Monozyten	Becton-Dickinson
L243	IgG2a	HLA-DR-Antigene	ATCC ³
Tü 22	IgG2a	HLA-DQ-Antigene	Ziegler
AK 111	IgG1	C3	Burger
AK 105	IgG1	C3	Burger
AK 146	IgG	C1q	Loos
G2B12	IgG	C4B	O'Neill''
IC4	IgG	C4A	O'Neill

1- Hybritech Inc., San Diego, Ca

2- Becton-Dickinson, Mountain View, Ca

3- American Type Cell Collection, Rockville, MD

3. Indirekte Immunperoxidase-Färbung

Die Überwiegende Zahl von Antigenen, die durch die heute zur Verfügung stehenden monoklonalen Antikörper erkannt werden, sind nur darstellbar, wenn das Gewebe in der Kryostattechnik aufgearbeitet und schonend fixiert wird. Eine der möglichen Darstellungsmethoden ist die Immunperoxidasereaktion, bei der Peroxidase-konjugierte Sekundärantikörper an den monoklonalen primären Antikörper gebunden werden.

Die tiefgefrorenen Gewebestücke wurden in einem Mikrotom (Frgocut 2700, Fa. Reichert-Jung, Heidelberg, FRG) 5 Mikrometer dick geschnitten, lyophilisiert und 10 Minuten in Azeton fixiert. Der nächste Schritt bestand in der 45-60-minütigen Inkubation mit den entsprechenden, maus-monoklonalen Antikörpern, deren optimale Konzentration zuvor in verschiedenen Verdünnungsreihen auf Tonsillengewebe ausgetestet wurde. Anschließend wurden die Gewebeschnitte vorsichtig mit PBS (phosphate buffered saline) gewaschen und für 45 Minuten mit einem Komplex aus Meerrettich-Peroxidase und Kaninchen-Anti-Maus-Immunglobulin-Antikörper (Dakopatts, Kopenhagen/Dänemark) beschichtet. Nach erneutem Waschen mit PBS wurde die Peroxidase durch Zugabe von 3-Amino-9-äthyl-carbazol in Gegenwart von H_2O_2 sichtbar gemacht (Sigma Nr. A-5754; Chemical Company). Die Färbelösung bestand aus:

20 mg 3-Amino-9-äthyl-carbazol,
gelöst in 12 ml Dimethylsulfoxid
(Merck Art. 2931, Darmstadt) und
300 ml PBS sowie 10 μ l H_2O_2 .

Anschließend wurden die Gewebeschnitte in Hämalaun gegengefärbt, 10 Minuten gewässert und in Kaisers Glyceringelatine (Merck Art. 9242) eingebettet.

Zur negativen Kontrolle ersetzten wir den ersten monoklonalen Antikörper durch unspezifisches Mausmyelomprotein entsprechenden Isotyps.

Um quantitative Unterschiede der interstitiellen Zellinfiltration besser erfassen zu können, wurden die positiven Zellen von zwei unabhängigen Untersuchungen in 10 aufeinanderfolgenden Gesichtsfeldern ausgezählt. Mit Hilfe eines Rasters wurden $10 \times 0,01 \text{ mm}^2$ große Felder

erfaßt. Das Lesen der Ergebnisse sollte durch die Übertragung in ein Plussystem erleichtert werden.

Im Nierengewebe mit proliferativen Veränderungen wurden zusätzlich die Leukozyten in jedem, im Gewebeschnitt erfaßten, Glomerulus ausgezählt. Der Glomerulus mit der höchsten Anzahl positiver Zellen wurde als Grundlage für die Übertragung in das Plussystem herangezogen.

Zur Dokumentation wurden repräsentative Gewebeschnitte fotografiert.

C. ERGEBNISSE

I. Charakterisierung interstitieller Leukozyteninfiltrate im Nierengewebe von Patienten mit Glomerulonephritis und im gesunden Gewebe einer Kontrollgruppe.

1. Normalniere

Leukozyteninfiltrate im Gewebe von Glomerulonephritispatienten wurden mit dem lymphozytären Infiltrat des normalen Nierengewebes, d.h. makroskopisch und mikroskopisch unauffälligen Anteilen von Tumornephrektomien, verglichen. Innerhalb dieser Vergleichsgruppe waren die im Gewebe lokalisierbaren Leukozyten zahlenmäßig unterschiedlich stark vertreten: Während im Untersuchungsmaterial einiger Patienten Leukozyten nur locker verstreut im Gewebe gesehen werden konnten (Gewebeprobe Nr. 8 und Nr. 9), sah man in den anderen Gewebeschnitten ausgeprägtere Zellinfiltrate. Der überwiegende Teil dieser Zellen reagierte mit den Antikörpern T-1110, Leu3a und T-811, das heißt, daß es sich hierbei um T-Lymphozyten handelt.

Makrophagen, die mit Hilfe des Antikörpers Leu M3 identifiziert wurden, konnten nicht in größeren Zellansammlungen gefunden werden, sondern lagen vereinzelt zwischen den Tubuli. Ihr Anteil am Gesamtinfiltrat war gering.

Fast ausnahmslos reagierte der MoAk T29/33 in jedem untersuchten Präparat mit länglichem, dem parietalen Blatt der Bowmankapsel benachbarten Zellen, wie es die Abbildung 2 wiedergibt.

Die nähere Charakterisierung dieser Zellen im menschlichen Gewebe war nicht vollständig möglich: Nur gelegentlich reagierten die beschriebenen Zellen mit dem MoAk Leu M3, regelmäßig dagegen mit dem MoAk L243. Unter Berücksichtigung morphologischer Gesichtspunkte macht dies ihre Zugehörigkeit zu Zellen der Makrophagenreihe wahrscheinlich.

TABELLE II

Quantitative Analyse infiltrierender Leukozyten im gesunden Nierengewebe

Gewebe	T29/33	T-1110	Leu 3a	T 811	Leu M3
1	(++) 18 $\pm$ 4	(+) 4 $\pm$ 2	(+) 6 $\pm$ 5	(+) 5 $\pm$ 2	(+) 13 $\pm$ 1
2	(++) 27 $\pm$ 17	(+) 16 $\pm$ 24	(++) 25 $\pm$ 24	n.d.	(+) 5 $\pm$ 4
3	(+) 15 $\pm$ 13	(+) 1 $\pm$ 0	(+) 13 $\pm$ 20	(+) 2 $\pm$ 1	(+) 4 $\pm$ 5
4	(+) 10 $\pm$ 7	(+) 3 $\pm$ 2	-	(+) 3 $\pm$ 1	-
5	(++) 27 $\pm$ 19	n.d.	(+) 8 $\pm$ 8	(+) 3 $\pm$ 1	-
6	(++) 30 $\pm$ 23	(++) 26 $\pm$ 16	(+) 7 $\pm$ 5	(+) 9 $\pm$ 8	(+) 4 $\pm$ 4
7	(+) 14 $\pm$ 9	(+) 8 $\pm$ 7	(+) 2 $\pm$ 1	(+) 6 $\pm$ 6	(+) 6 $\pm$ 4
8	(+) 5 $\pm$ 2	(+) 5 $\pm$ 3	n.d.	(+) 3 $\pm$ 2	(+) 3 $\pm$ 1

Lg.: Mittelwert aus 10 nebeneinanderliegenden Gesichtsfeldern $\pm$ Standardabweichung;

+ : geringe Zellinfiltration

++ : mittelstarke Zellinfiltration

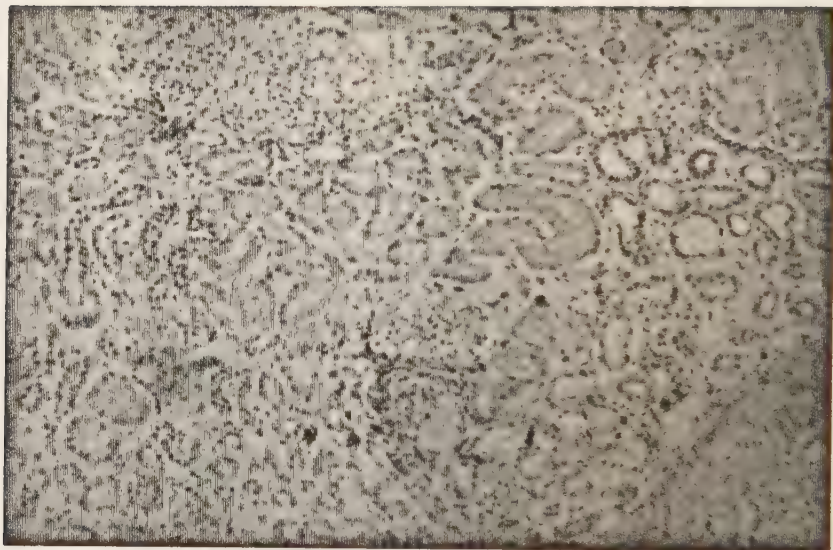


Abb. 1 : Reaktion des MoAk T29/33 im gesunden Nierengewebe

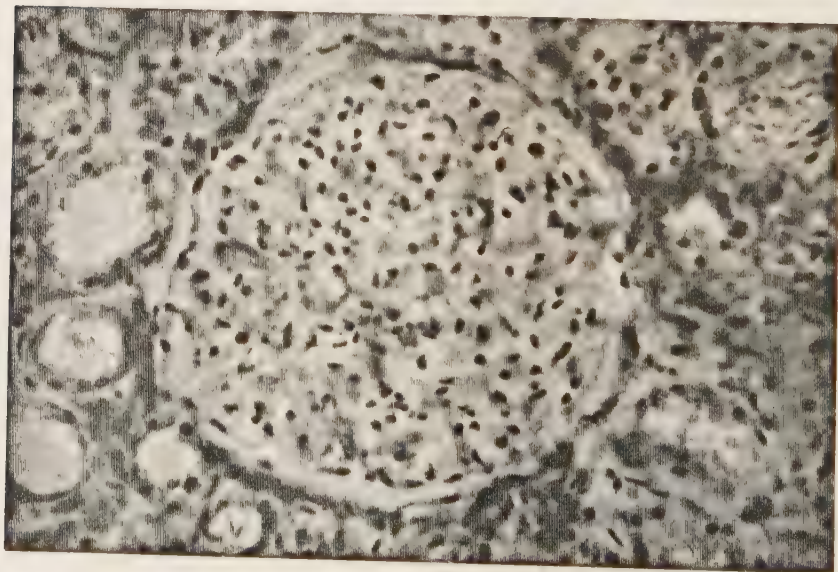


Abb. 2 : Fast regelmäßig reagiert der MoAk 229/33 mit Zellen, die dem Glomerulus direkt anliegen

2. Minimal-change-Nephritis

Im histologischen Bild einer Minimal-change-Nephritis, d.h. im Gewebe mit Minimalveränderungen, sind ausgeprägte Leukozyteninfiltrate nicht typisch. Beim Vergleich zwischen der Anzahl immunkompetenter Zellen im nicht entzündlich veränderten Nierengewebe und entsprechenden Zellen im Minimal-change-Nephritis-Gewebe fiel sogar auf, daß das zum Vergleich herangezogene Untersuchungsmaterial teilweise ein ausgeprägteres Leukozyteninfiltrat aufwies.

Die Zellen sind locker, ohne nennenswerte Foci an bestimmter Stelle, im Interstitium verteilt.

Nur in der Gewebeprobe Nr. 7 konnte eine periglomeruläre Leukozytenansammlung gefunden werden.

Die nähere Charakterisierung mit anderen Antikörpern zeigte, daß T-Lymphozyten auch hier die vorherrschende Zellpopulation waren.

Eine eindeutige Dominanz einer der beiden T-Lymphozytensubpopulationen, d.h. T-Helfer- oder T-Suppressor-Lymphozyten war nicht klar erkennbar, wenn auch zahlenmäßig in den Fällen mit stärkerer Infiltration die T-Helfer-Lymphozyten überlegen waren.

Makrophagen, identifiziert durch die Reaktion mit dem monoklonalen Antikörper Leu M3, kamen gelegentlich und nicht regelmäßig vor. Sie waren die Zellpopulation mit der geringsten Beteiligung am lymphozytären Infiltrat.

3. Perimembranöse Glomerulonephritis

Die perimembranöse Glomerulonephritis ist als Immunkomplexnephritis überwiegend unbekannter Ätiologie einzuordnen. Pathohistologisches Merkmal des untersuchten Gewebes war nicht die Zellproliferation, sondern die Ausbildung von Basalmembrantuberanzen. Dennoch zeigten zwei der untersuchten Gewebe eine ausgeprägtere Leukozyteninfiltration. Hierbei handelte es sich in einem Fall um eine chronisch perimembranöse GN in einer Transplantatniere, so daß dieses Gewebe nicht zum Vergleich innerhalb dieser Gruppe herangezogen werden konnte.

Stärkere Zellinfiltrationen waren für das übrige Gewebe nicht typisch. Wie der Tabelle IV zu entnehmen ist, bildeten auch bei dieser Glomerulonephritis-Form die T-Lymphozyten den Hauptanteil des lymphozytären Infiltrats. Sie waren ohne bevorzugte Lokalisation im Gewebe verteilt. Makrophagen waren erst in Fällen stärkerer Leukozyteninfiltration in nennenswerter Anzahl nachzuweisen.

TABELLE III

Quantitative Analyse der Leukozyten im Nierengewebe mit Minimalveränderungen

Patient.- Gewebe	T29/33	T-1110	Leu 3a	T 811	LeuM3
1	(+) 15 $\pm$ 6	(+) 10 $\pm$ 6	(+) 8 $\pm$ 4	(+) 9 $\pm$ 8	(+) 5 $\pm$ 2
2	(+) 17 $\pm$ 14	(+) 12 $\pm$ 15	(+) 6 $\pm$ 14	(+) 3 $\pm$ 3	-
3	(+) 9 $\pm$ 3	(+) 3 $\pm$ 3	(+) 3 $\pm$ 3	(+) 2 $\pm$ 1	(+) 4 $\pm$ 2
4	(+) 16 $\pm$ 9	(+) 15 $\pm$ 12	(+) 14 $\pm$ 12	(+) 9 $\pm$ 8	(+) 5 $\pm$ 5
5	(+) 3 $\pm$ 1	-	-	(+) 1 $\pm$ 1	-
6	(+) 10 $\pm$ 5	-	-	(+) 2 $\pm$ 2	(+) 4 $\pm$ 2
7	(+) 13 $\pm$ 32	(+) 18 $\pm$ 5	(+) 12 $\pm$ 25	(+) 8 $\pm$ 2	n.d.
8	6 $\overset{+}{\pm}$ 3	5 $\overset{+}{\pm}$ 5	3 $\overset{+}{\pm}$ 1	3 $\overset{+}{\pm}$ 3	4 $\overset{+}{\pm}$ 2
9	n.d.	-	-	-	-
10	(+) 1 $\pm$ 0	-	-	-	-
11	(+) 15 $\pm$ 8	(+) 11 $\pm$ 4	(+) 7 $\pm$ 8	(+) 5 $\pm$ 3	n.d.

Lg.: Mittelwert aus 10 nebeneinanderliegenden Gesichtsfeldern $\pm$
Standardabweichung

+ : geringe Zellinfiltration

TABELLE IV

Quantitative Analyse immunkompetenter Zellen im Nierengewebe von
Patienten mit perimembranöser Glomerulonephritis

Patient.- Gewebe	T29/33	T-1110	Leu 3a	T-811	Leu M3
1	(+) 4 $\pm$ 2	(+) 2 $\pm$ 2	(+) 1 $\pm$ 1	(+) 1 $\pm$ 1	(+) 0 $\pm$ 1
2	n.d.	-	-	(+) 1 $\pm$ 0	-
3	(++) 31 $\pm$ 23	(+) 13 $\pm$ 16	(+) 13 $\pm$ 13	(+) 13 $\pm$ 8	(+) 6 $\pm$ 5
4	(+) 10 $\pm$ 2	(+) 4 $\pm$ 3	(+) 5 $\pm$ 3	(+) 8 $\pm$ 5	(+) 1 $\pm$ 1
5	(+) 9 $\pm$ 7	(+) 1 $\pm$ 1	(+) 0 $\pm$ 1	n.d.	(+) 2 $\pm$ 3
6	(+) 11 $\pm$ 6	(+) 5 $\pm$ 3	(+) 6 $\pm$ 3	(+) 3 $\pm$ 3	(+) 7 $\pm$ 5
7	(+) 8 $\pm$ 3	-	(+) 2 $\pm$ 3	(+) 3 $\pm$ 2	(+) 2 $\pm$ 1
8	(+) 6 $\pm$ 2	n.d.	-	(+) 1 $\pm$ 0	-

Lg.: Mittelwert aus 10 nebeneinanderliegenden Gesichtsfeldern $\pm$
Standardabweichung

+ : geringe Zellinfiltration

++ : mittelstarke Zellinfiltration

4. Lupus Erythematoses-Glomerulonephritis

Hierbei handelt es sich um eine Nierenbeteiligung bei primärer Systemerkrankung des Bindegewebes. Die Lupusnephritis ist eine Immunkomplexnephritis, bei der Zellkernbestandteile als Antigen wirksam werden.

In unserem Untersuchungsgut fanden sich zwei Typen der Lupusnephritis: Die histopathologische Diagnose lautete in einem Fall (Gewebeprobe Nr. 1) 'Minimalveränderungen bei klinisch und serologisch bekannten systematischen Lupus-erythematoses', die vier anderen Gewebe zeigten mesangio-proliferative Veränderungen.

Obwohl im Biopsiegewebe Nr. 1 nur Minimalveränderungen diagnostiziert wurden, fielen bei den immunhistologischen Untersuchungen ausgeprägte Leukozyteninfiltrate auf. Sie waren im wesentlichen um zwei Glomeruli angeordnet und bestanden aus T-Lymphozyten.

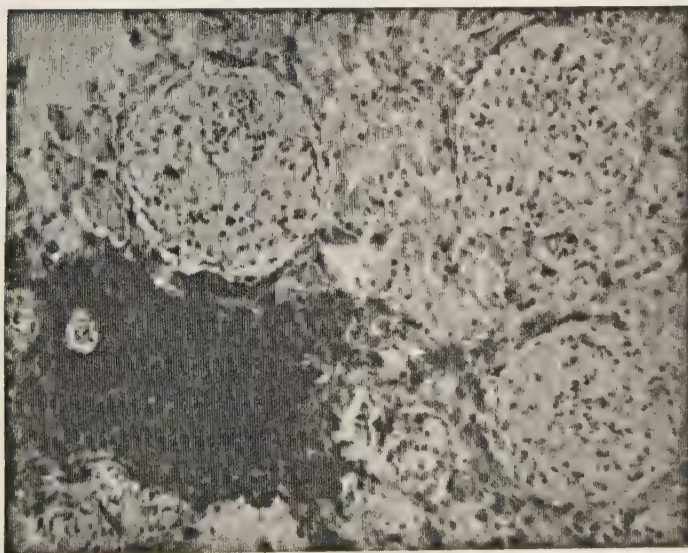


Abb. 3: Periglomeruläres Leukozyteninfiltrat im Gewebe einer Patientin mit Minimalveränderungen bei klinisch und serologisch gesicherten SLE. Es handelte sich hierbei um T-Lymphozyten.

Eine ähnlich starke Leukozyteninfiltration war nur noch in der Gewebeprobe Nr. 3 mit einer mäßiggradig mesangioproliferativen Glomerulonephritis zu sehen. Zwar war auch hier eine periglomeruläre Lokalisation deutlich erkennbar, die Reaktionen waren aber nicht nur auf diese Gegend beschränkt, sondern relativ gleichmäßig im Gewebe verteilt. Die beiden geringgradig proliferativ veränderten Gewebe Nr. 3 und Nr. 4 gaben keinerlei Hinweis auf eine stärkere Infiltration durch immunkompetente Zellen.

Wie bei den bisher beschriebenen GN-Typen bildeten die T-Lymphozyten den Großteil interstitiell reagierender Zellen. Eine Prädominanz von Suppressor/zytotoxischen T-Lymphozyten, wie sie von anderen Autoren beschrieben wurde (12), konnte nicht bestätigt werden.

Makrophagen bildeten nur im Gewebe Nr. 3 einen größeren Anteil am lymphozytären Infiltrat. Hier waren auch intraglomerulär lokalisierte Leukozyten auffällig.

TABELLE V

Quantitative Analyse der Leukozyten im Nierengewebe von Patienten mit systemischem Lupus erythematoses

Patient.- Gewebe	T29/33	T-1110	Leu3a	T-811	Leu M3
1	(+++) 78 ± 83	(+++) 46 ± 61	(++) 28 ± 59	(+) 16 ± 12	-
2	(+) 6 ± 2	(+) 7 ± 13	(+) 3 ± 2	(+) 2 ± 1	2 ± 2
3	(+++) 46 ± 41	n.d.	(++) 35 ± 32	(+) 18 ± 17	(++) 30 ± 24
4	n.d.	-	-	-	-
5	(+) 4 ± 1	-	-	-	n.d.

Lg.: Mittelwert aus nebeneinanderliegenden Gesichtsfeldern

± Standardabweichung

+ : geringe Zellinfiltration

++ : mittelstarke Zellinfiltration

+++ : starke Zellinfiltration

5. Mesangioproliferative Glomerulonephritis

Unter dem Begriff der mesangioproliferativen Glomerulonephritis werden histopathologische Veränderungen unterschiedlichen Schweregrades zusammengefaßt. Das Spektrum reichte von gering ausgeprägten mesangioproliferativen Veränderungen bis zu klinisch oft rapid-progressiv verlaufenden GN-Formen, die häufig mit intraglomerulärer Halbmondbildung assoziiert waren. Diese Inhomogenität kam auch in der quantitativen Analyse der im Gewebe lokalisierbaren Leukozyten zum Ausdruck.

Wenig eindrucksvoll war die Zellinfiltration in Geweben mit der histopathologischen Diagnose einer geringgradigen mesangioproliferativen Glomerulonephritis (Patientengewebe Nr. 1, 2, 3, 4 und 5 in Tabelle VI), während mittel bis schwergradig verändertes Gewebe (Patientengewebe Nr. 7, 9, 12 und 15) auch entsprechend ausgeprägte Leukozyteninfiltrate aufwiesen. Besonders im Biopsiegewebe mit intraglomerulären Halbmonden umgaben die dichten Lymphozyteninfiltrate die Glomeruli. Hierbei handelte es sich überwiegend um T-Lymphozyten. Bei der Differenzierung in T-Lymphozytensubpopulationen war auffällig, daß die Summe der zu den Subpopulationen zählenden Zellen größer war, als die Zahl der durch den Pan-T-Lymphozytenantikörper T-1110 erfaßten Leukozyten.

Der Anteil der Makrophagen am Gesamtinfiltrat war in den geringgradig veränderten Geweben gering. Ihre Zahl schien ebenfalls mit der Gesamtzahl infiltrierender Leukozyten positiv korreliert.

Leu M3-positive Zellen lagen nicht bevorzugt periglomerulär, sondern im peritubulären Interstitium.

5.1 Glomeruläre Zellpopulation

Die bis hierher aufgeführten Untersuchungsergebnisse gaben ausschließlich über die Charakterisierung immunkompetenter Zellen im Interstitium Auskunft. Der Grund hierfür liegt in der zu vernachlässigenden Reaktion intraglomerulärer Zellen in den Biopsiegeweben von Patienten mit Minimal-change-Nephritis, perimembranöser Glomerulonephritis und Lupus-erythematodes-Glomerulonephritis.

Eindrucksvolle Leukozytenansammlungen im Glomerulus waren ausschließlich im proliferativ veränderten Gewebe nachzuweisen. Regelmäßig war in diesen Gewebeproben auch das Interstitium stärker leukozyteninfiltriert. Wie der Tabelle VI zu entnehmen ist, war auf der anderen Seite nicht jede größere Zellansammlung im Interstitium mit dem Nachweis intraglomerulärer Leukozyten korreliert. Die T-200-positiven Zellen im Glomerulus reagierten auch mit den MoAk Leu M3 und L243 und wurden hierdurch als Makrophagen identifiziert.

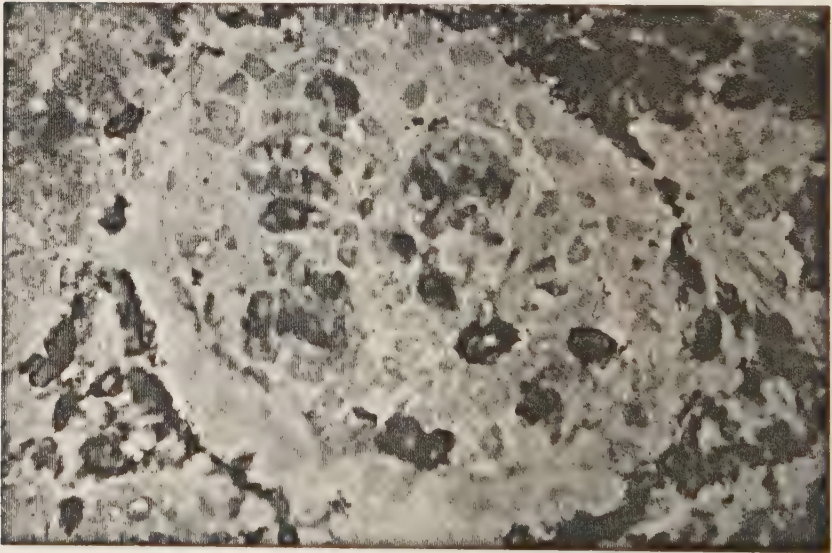


Abb. 4: Im Glomerulus nachweisbare Leukozyten im Nierengewebe eines Patienten mit mesangioproliferativer Glomerulonephritis.

Ausschnitt aus Abb. 5

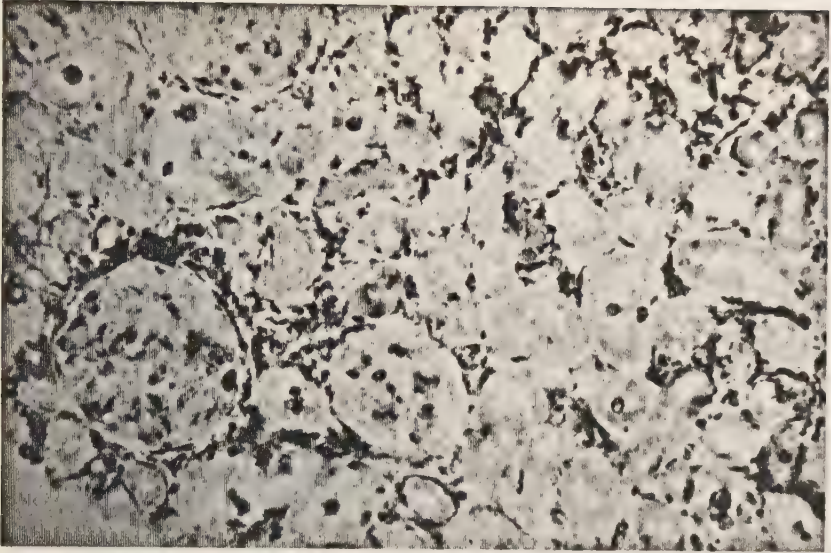


Abb. 5: Leukozyten bei MesGN, die periglomerulär lokalisierten Zellen konnten als T-Lymphozyten, intraglomeruläre Leukozyten als Makrophagen identifiziert werden.



Abb. 6: Ausgeprägte Leukozyteninfiltration bei MesGN



Abb. 7: T-811-positive Lymphozyten im peritubulären Interstitium

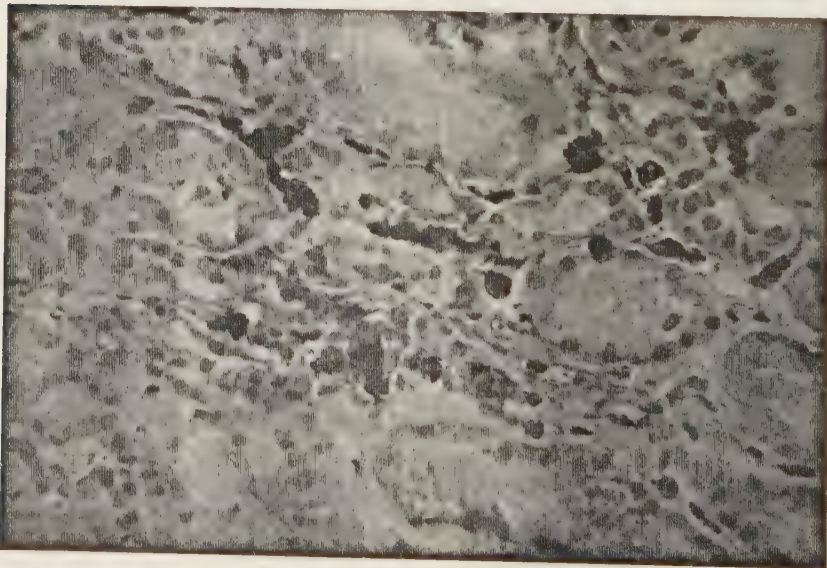


Abb. 8: Makrophagen im Niereninterstitium

TABELLE VI

Quantitative Analyse immunkompetenter Zellen im Nierengewebe von Patienten mit mesangioproliferativer Glomerulonephritis

Patient.- Gewebe	T29/33	T-1110	Leu 3a	T-811	Leu M3	Intraglom. Leukozyten- infiltration
1	(+) 11 $\pm$ 3	(+) 6 $\pm$ 2	(+) 5 $\pm$ 6	(+) 7 $\pm$ 7	(+) 7 $\pm$ 5	(+)
2	(+) 15 $\pm$ 19	(-) -	(-) -	(+) 1 $\pm$ 0	-	(-)
3	(+) 16 $\pm$ 8	-	-	(+) 3 $\pm$ 2	-	(-)
4	(+) 11 $\pm$ 4	(-) -	(-) -	(+) 1 $\pm$ 0	-	(+)
5	(-) n.d.	(-) -	(-) -	(-) -	n.d.	(-)
6	(++) 34 $\pm$ 35	n.d.	(++) 29 $\pm$ 28	(-) n.d.	(-) n.d.	(+)
7	n.d.	(++) 40 $\pm$ 15	(+) 8 $\pm$ 12	(+) 16 $\pm$ 11	(++) 27 $\pm$ 9	(++)
8	(++) 26 $\pm$ 22	(+) 10 $\pm$ 20	(++) 23 $\pm$ 28	(+) 1 $\pm$ 2	n.d.	(-)
9	(++) 32 $\pm$ 11	(+) 18 $\pm$ 5	(+) 19 $\pm$ 11	(+) 7 $\pm$ 8	-	(++)
10	(+++) 76 $\pm$ 25	(+++) 44 $\pm$ 32	(+++) 36 $\pm$ 32	(++) 26 $\pm$ 16	(++) 26 $\pm$ 2	(++++)
11	(+++) 61 $\pm$ 34	(+) 10 $\pm$ 7	(++) 31 $\pm$ 14	(++) 20 $\pm$ 13	(++) 23 $\pm$ 7	(+++)
12	(++) 37 $\pm$ 20	(++) 34 $\pm$ 18	(+) 18 $\pm$ 14	(++) 26 $\pm$ 16	(+) 11 $\pm$ 5	(+++)
13	(++) 30 $\pm$ 9	(+) 4 $\pm$ 4	(+) 13 $\pm$ 13	(+) 4 $\pm$ 3	(++) 31 $\pm$ 13	(++++)
14	(++) 35 $\pm$ 10	n.d.	(++) 32 $\pm$ 10	(+) 8 $\pm$ 3	(+) 5 $\pm$ 3	(-)
15	(+++) 44 $\pm$ 14	(++) 30 $\pm$ 12	(++) 29 $\pm$ 15	(+) 9 $\pm$ 3	(+) 15 $\pm$ 9	(+++)
16	(+++) 57 $\pm$ 22	(++) 38 $\pm$ 19	(++) 32 $\pm$ 21	(+) 19 $\pm$ 11	(+) 7 $\pm$ 3	(-)

Fortsetzung TABELLE VI

Patient.- Gewebe	T29/33	T-1110	Leu 3a	T-811	Leu M3	Intraglom.- Leukozyten- infiltration
17	(++) 25 $\pm$ 14	(+) 6 $\pm$ 4	(+) 12 $\pm$ 14	(+) 6 $\pm$ 3	n.d.	(+)
18	(++) 37 $\pm$ 23	(+) 15 $\pm$ 5	(+) 17 $\pm$ 7	(+) 7 $\pm$ 3	(+) 15 $\pm$ 5	(-)
19	(++) 37 $\pm$ 45	(+) 14 $\pm$ 7	(+) 7 $\pm$ 8	(+) 5 $\pm$ 8	(+) 5 $\pm$ 3	(-)
20	(+) 11 $\pm$ 9	n.d.	(-) -	(+) 6 $\pm$ 5	(-) -	(+)
21	(+) 18 $\pm$ 8	(+) 2 $\pm$ 1	(-) -	(+) 4 $\pm$ 4	n.d.	(+)
22	(++++) 45 $\pm$ 20	(++) 30 $\pm$ 18	n.d.	(+) 12 $\pm$ 9	n.d.	n.d.

Lg.: Mittelwert aus 10 nebeneinanderliegenden Gesichtsfeldern
 $\pm$ Standardabweichung

+ : geringe Zellinfiltration

++ : mittelstarke Zellinfiltration

+++ : starke Zellinfiltration

Intraglomeruläre Leukozyteninfiltration:

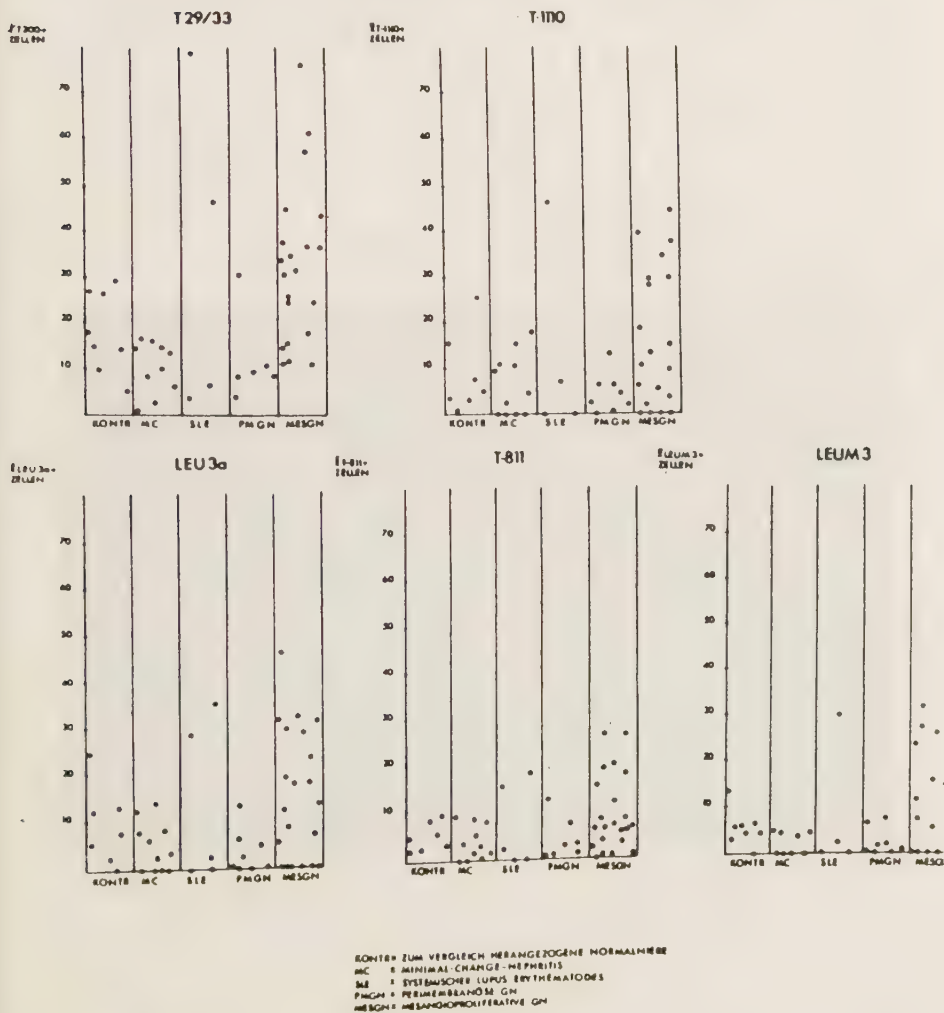
+ : 5 bis 10 positive Zellen

++ : 10 bis 20 positive Zellen

+++ : 20 bis 50 positive Zellen

++++ : über 50 positive Zellen

Charakterisierung von immunkompetenten Zellen im Niereninterstitium
von Patienten mit Glomerulonephritis



II. Expression von HLA-DR-Antigenen im Nierengewebe

Die Expression von HLA-DR-Antigenen wurde sowohl im Glomerulonephritidgeewebe als auch in der Normalniere untersucht (s. Tabelle VII).

In den Glomeruli aller untersuchten Gewebeproben läßt sich HLA-DR-Antigen nachweisen, besonders stark reagierten die Endothelzellen der glomerulären Kapillaren. Die Mesangialzellen erscheinen ebenfalls HLA-DR-Antigen-positiv. Allerdings ist diese Frage mit letzter Sicherheit nicht zu beantworten, da die genaue Zuordnung der Reaktion zu bestimmten Strukturen im Gefrierschnitt limitiert und zum Teil auch elektronenoptisch nicht möglich ist.

Parietale Epithelzellen zeigten keine Reaktion mit dem monoklonalen Antikörper L243.

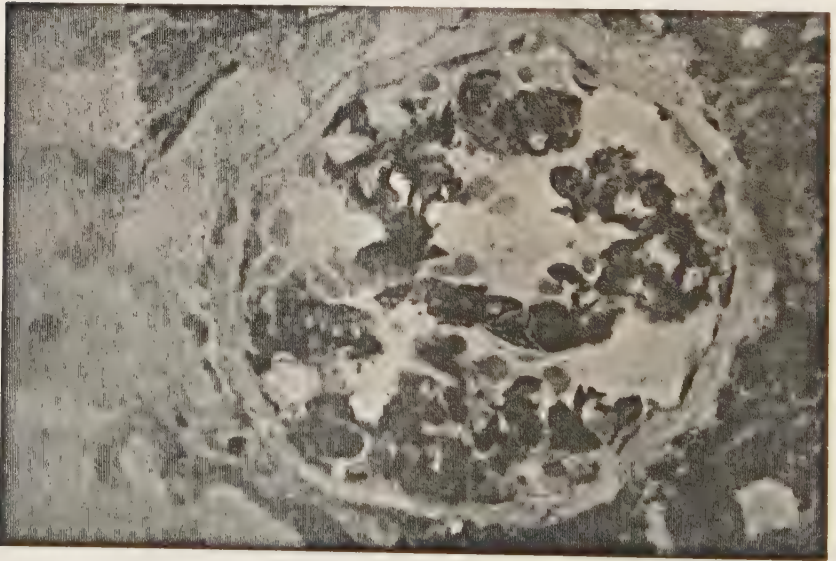


Abb. 9: Typische Reaktion des MoAk L243 im Glomerulus; parietale Epithelzellen exprimieren kein HLA-DR-Antigen.

Im Niereninterstitium war HLA-DR-Antigen auf allen Zellen des peritubulären Interstitiums nachweisbar. Unabhängig von der Art der zugrundeliegenden histologischen Veränderungen reagierten diese interstitiellen Zellen am stärksten. Regelmäßig waren die Endothelzellen der peritubulären Kapillaren HLA-DR-positiv.

Dagegen war die Reaktion der Tubulusepithelzellen uneinheitlich: Neben Geweben, in denen sich die Tubuli nicht anfärbten, sahen wir in anderen Gewebeschnitten eine positive Reaktion der Tubuluszellen, die besonders deutlich proximale Tubuluszellen betraf. Selten reagierten alle Tubulusstrukturen.

Auffallend war, daß HLA-DR-Antigen-negative Tubuli ausschließlich in Geweben nachgewiesen werden konnten, deren histologische Veränderungen und Leukozyteninfiltration gering waren.

Mit nur einer Ausnahme exprimierten alle Zellen des lymphozytären Infiltrates HLA-DR-Antigen.

Im Gewebe Nr. 19, Minimalveränderungen bei klinisch und serologisch bekannten systemischen Leupus-erythematoses, exprimierten die periglomerulär angeordneten T-Lymphozyten dieses Histokompatibilitätsantigen nicht.

Bezüglich Verteilung und Lokalisation brachte der Vergleich zwischen gesundem Gewebe und Glomerulonephritis-Gewebe, bis auf die Bestätigung des schon beschriebenen gemeinsamen Vorkommens von stärkerer Leukozyteninfiltration und gesteigerter HLA-DR-Expression keine zusätzliche Information.

TABELLE VII

Die Expression von HLA-DR-Antigenen auf Nierentubuluszellen im histopathologisch unterschiedlich veränderten Nierengewebe

Patient.- Gewebe	Pathol.Diag.	T29/33	tub.HLA-DR-Expression
1	MC	(+) 3 $\pm$ 7	(-)
2	MC	n.d.	(+)
3	MC	(+) 6 $\pm$ 3	(+)
4	MC	(+) 16 $\pm$ 9	(+)
5	MC	(+) 17 $\pm$ 14	(+)
6	MC	(+) 9 $\pm$ 3	(-)
7	keine glom.Erkrankg.		(+)
8	PMGN	4 $\frac{(+)}{+}$ 2	(+)
9	PMGN	(++) 31 $\pm$ 22	(+)
10	PMGN	(+) 10 $\pm$ 2	(+)
11	PMGN	11 $\frac{(+)}{+}$ 6	(+)
12	PMGN	8 $\frac{(+)}{+}$ 3	(+)
13	MESGN	27 $\frac{+++}{+}$ 20	(+)
14	MESGN	(+++) 57 $\pm$ 22	(+)
15	MESGN	(+++) 76 $\pm$ 25	(++)
16	MESGN	(++) 37 $\pm$ 20	(+)
17	MESGN	15 $\frac{(+)}{+}$ 19	(-)
18	MESGN	37 $\frac{+++}{+}$ 45	(+)

Fortsetzung TABELLE VII

Patient.- Gewebe	Pathol.Diag.	T29/33	tub.HLA-DR-Expression
		(+)	(+)
19	MESGN	16 $\pm$ 7	
		(++)	(+)
20	Abstoßung	26 $\pm$ 14	
		(+++)	(+)
21	Abstoßung	59 $\pm$ 22	
		(+++)	(++)
22	interstit. Nephritis		

- : keine der Tubulusepithelzellen reagieren mit dem MoAk 243
- + : nur ein Teil der Tubulusepithelzellen, meistens proximale Tubuli, sind HLA-DR-positiv
- ++ : alle Tubuli reagieren mit dem MoAk L 243
- MC : Minimal-change-Nephritis
- PMGN : Perimembranöse Glomerulonephritis
- MESGN: Mesangioproliferative Glomerulonephritis

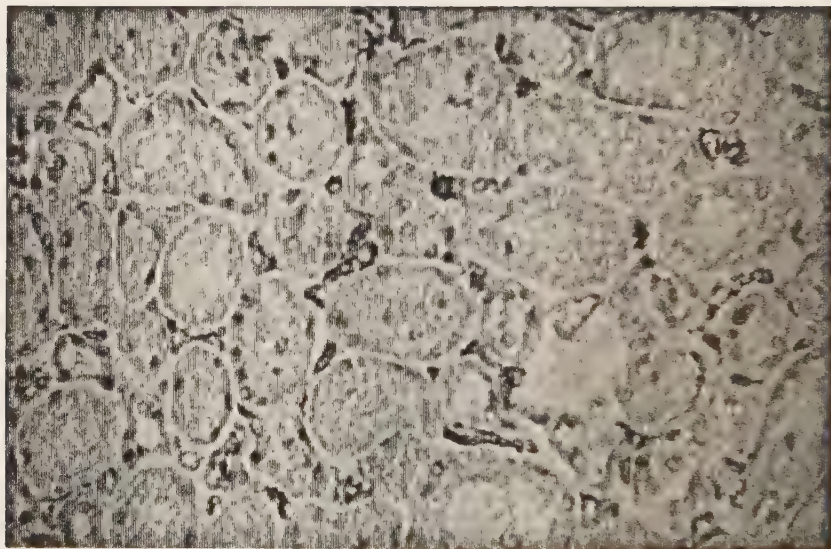


Abb. 10: Repräsentative Reaktion des MoAk L 243. Auffallend sind die HLA-DR-Antigen-negativen Tubuli (Diagnose: Minimal-changes).

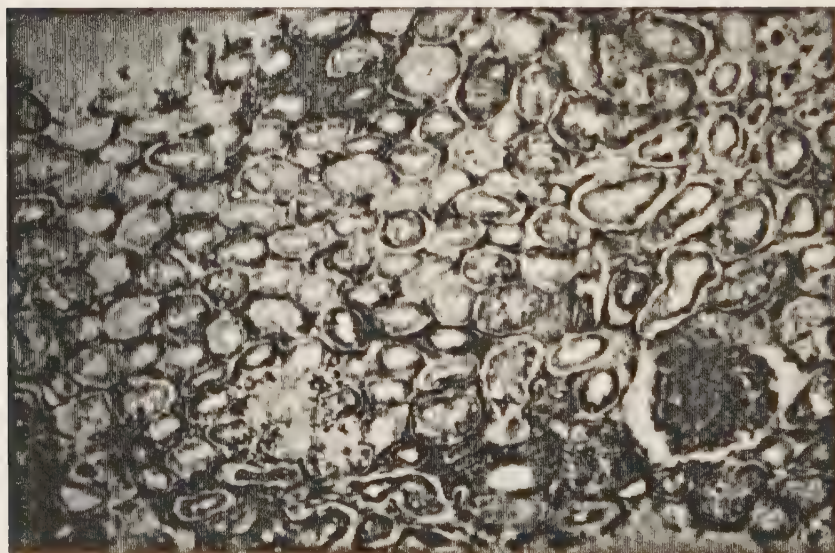


Abb. 11: Expression von HLA-DR-Antigenen auf Tubulusepithelzellen (Diagnose: Mesangioproliferative GN)

III. Lokalisation und Verteilung von HLA-DQ-Antigenen im Nierengewebe

Zwischen der Reaktivität des HLA-DR-Antikörpers und des HLA-DQ-Antikörpers bestand ein signifikanter Unterschied: Im Gegensatz zu den HLA-DR-Antigenen wurden die HLA-DQ-Antigene in der Regel nicht auf Zellen des Nierenparenchyms gefunden. Die Anzahl Tü-22-positiver Zellen, also der HLA-DQ-Antigen-tragenden Zellen, ist mit der Stärke des Gesamtinfiltrates korreliert. Die Reaktion betraf hauptsächlich interstitielle Zellen, die rein morphologisch nicht den Lymphozytenpopulationen zuzuordnen waren. Überwiegend handelte es sich um langgezogene, spindelförmige Zellen, die von den sogenannten interstitiellen Zellen des Nierenparenchyms nur schwer abgrenzbar waren. Sie reagierten auch mit den MoAk T29/33, L 243 und vereinzelt auch mit dem Makrophagenantikörper Leu M3. Besonders deutlich war dieses Reaktionsmuster im Gewebe eines Patienten mit membranproliferativer Glomerulonephritis wiederzufinden, das nicht in die Auswertung mit einbezogen wurde. In diesem Fall färbten sich nicht nur zahlreiche Zellen im Interstitium, sondern es reagierten auch intraglomeruläre Zellen.

TABELLE VIII

Quantitative Analyse HLA-DQ-positiver Zellen (Tü-22) im Verhältnis zur Gesamtleukozytenzahl (T29/33), T-Lymphozyten (T-1110) und Makrophagen (Leu M3)

Patient.- Gewebe	Pathol. Diag.	T29/33	T-1110	Leu M3	Tü-22
1	Normalniere	(+) 18 $\pm$ 4	(+) 4 $\pm$ 6	(+) 13 $\pm$ 6	(+) 3 $\pm$ 3
2	Normalniere	(++) 27 $\pm$ 17	(+) 14 $\pm$ 2	(+) 5 $\pm$ 4	(++) 20 $\pm$ 3
3	Normalniere	(++) 27 $\pm$ 19	n.d.	(+) 6 $\pm$ 2	(+) 11 $\pm$ 3
4	Normalniere	(++) 30 $\pm$ 23	(++) 26 $\pm$ 16	(+) 4 $\pm$ 3	(+) 8 $\pm$ 7
5	Normalniere	(+) 14 $\pm$ 8	n.d.	(+) 6 $\pm$ 4	(+) 4 $\pm$ 3
6	Normalniere	(+) 5 $\pm$ 2	(+) 5 $\pm$ 3	(+) 3 $\pm$ 1	(-)
7	MC	(+) 15 $\pm$ 6	(+) 10 $\pm$ 6	(+) 4 $\pm$ 2	(+) 1 $\pm$ 0
8	MC	(+) 6 $\pm$ 3	(+) 5 $\pm$ 5	(+) 4 $\pm$ 3	(+) 4 $\pm$ 3
9	MC	(+) 10 $\pm$ 5	(-)	(+) 4 $\pm$ 2	(-)
10	PMGN	(+) 10 $\pm$ 2	(+) 4 $\pm$ 3	(+) 1 $\pm$ 1	(+) 7 $\pm$ 5
11	PMGN	(+) 8 $\pm$ 3	(-)	(+) 2 $\pm$ 1	(+) 7 $\pm$ 9
12	MESGN	(+) 17 $\pm$ 14	(+) 12 $\pm$ 15	(-)	(+) 6 $\pm$ 4

Fortsetzung TABELLE VIII

Patient.- Gewebe	Pathol. Diag.	T29/33	T-1110	Leu M3	Tü-22
13	MESGN	(+++) 57 $\pm$ 22	(++) 38 $\pm$ 19	(+) 7 $\pm$ 3	(+) 16 $\pm$ 14
14	MESGN	(++) 27 $\pm$ 20	(+) 18 $\pm$ 10	(+) 13 $\pm$ 5	(++) 20 $\pm$ 22
15	MESGN	(+) 9 $\pm$ 2	(+) 5 $\pm$ 2	(-)	(-)
16	MESGN	(+) 15 $\pm$ 10	(+) 6 $\pm$ 9	n.d.	(+) 11 $\pm$ 13
17	MESGN	(+++) 44 $\pm$ 14	(++) 29 $\pm$ 11	(+) 15 $\pm$ 9	(+) 16 $\pm$ 6
18	MESGN	(+) 11 $\pm$ 4	(+) 6 $\pm$ 2	(+) 7 $\pm$ 5	(+) 8 $\pm$ 4

Lg. : Mittelwert aus 10 nebeneinanderliegenden Gesichtsfeldern $\pm$ Standardabweichung

MC = minimal-change-Nephritis

PMGN = perimembranöse Glomerulonephritis

MESGN = mesangioproliferative Glomerulonephritis

IV. Nachweis von Komplement C4 im Nierengewebe

Zunächst wurden Antikörper, die mit den Komplementkomponenten C1, C3 und C4 reagieren, im gesunden Nierengewebe von sieben Patienten eingesetzt. Trotz nachgewiesener Reaktionsfähigkeit von C1 im Tonsillengewebe, konnten weder C1 noch C3 im Nierengewebe sichtbar gemacht werden.

Unerwarteterweise reagierten aber beide Anti-C4-Antikörper: In diesen sieben Präparaten zeigten Anti-C4A und Anti-C4B dasselbe Reaktionsmuster: Neben kleinen Arteriolen im Interstitium waren vor allen Dingen Zellstrukturen im Mesangialbereich aller Glomeruli C4A- und C4B-positiv.

Das Tubulussystem und alle anderen zum Interstitium gehörenden Strukturen blieben ohne Reaktion.

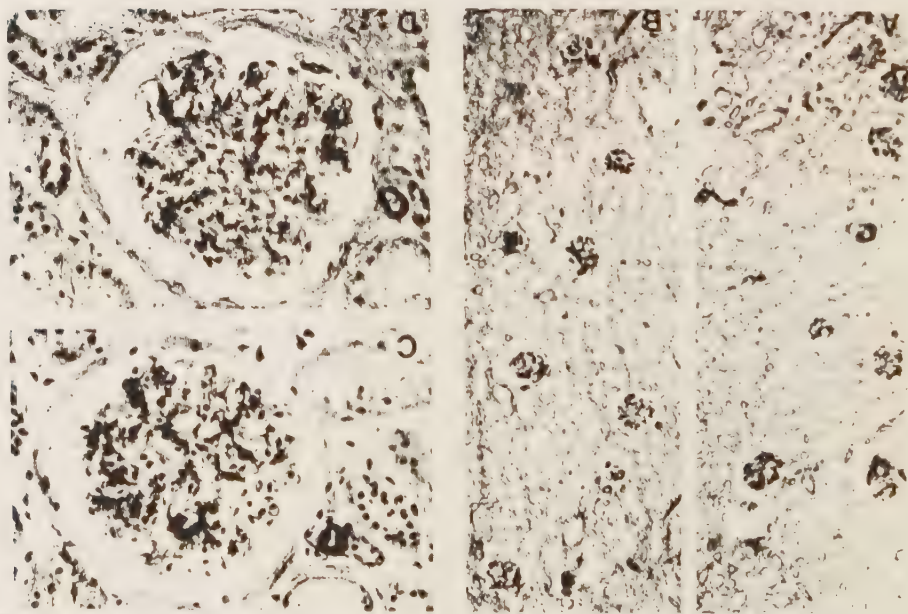


Abb. 12: Reaktion der MoAk G2B12 und IC4 im gesunden Nierengewebe

Reaktion der beiden Antikörper G2B12 und IC4 im Gewebe einer Patientin mit SLE



Abb. 13: Wie serologisch bestätigt werden konnte, fehlten die C4B-Genprodukte.

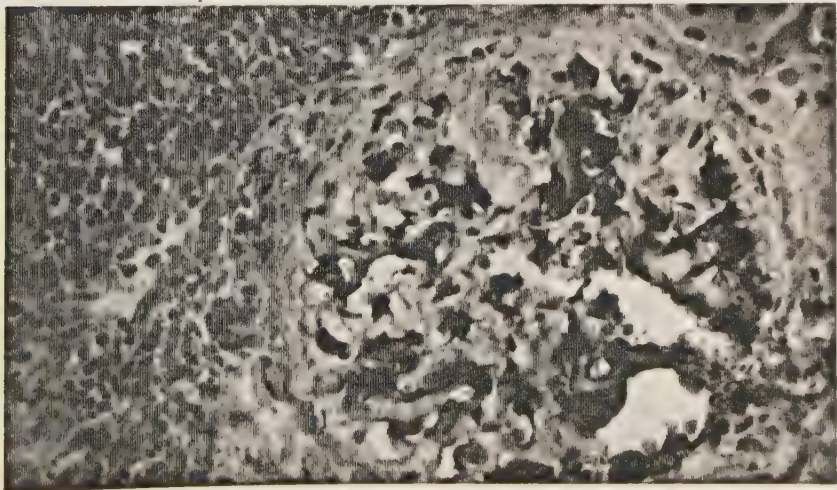


Abb. 14: Reaktion des MoAk IC4 im selben Glomerulus

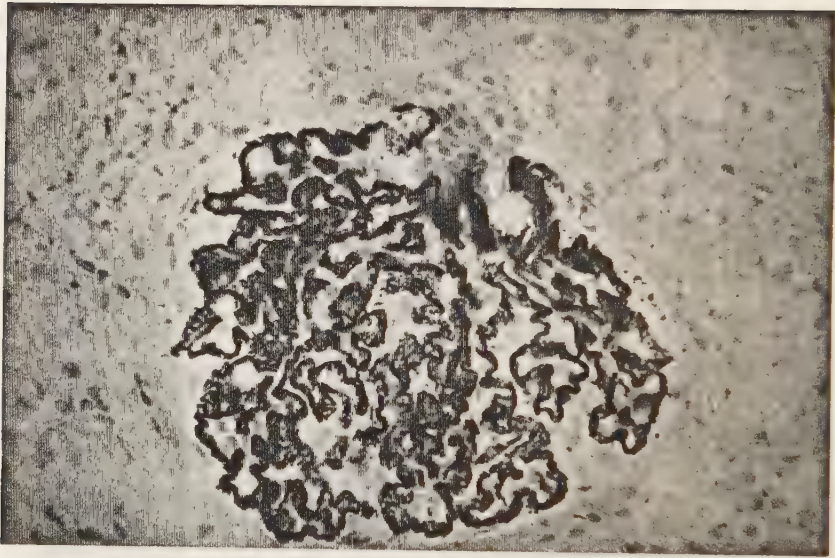


Abb. 15: C4B-Genprodukte entlang intraglomerulärer Kapillaren
(Diagnose: Perimembranöse GN)

Die Reaktivität der C4-Antikörper wurde anschließend auch im Glomerulonephritis-Gewebe geprüft, zudem uns zum Vergleich die immunhistologischen Untersuchungsergebnisse zugänglich waren.

Wie der Tabelle IX zu entnehmen ist, untersuchten wir die C4A-und/oder C4B-Expression im Gewebe von 22 Patienten. Von wenigen Ausnahmen abgesehen, unterschied sich das Färbemuster nicht vom oben beschriebenen, d.h. regelmäßig reagierten intraglomeruläre Gewebestrukturen.

Dies stand erstaunlicherweise im Gegensatz zu den Ergebnissen der routinemäßig durchgeführten immunhistologischen Untersuchungen, mit deren Hilfe im Gewebe von nur drei von 22 untersuchten Patienten C4 nachgewiesen werden konnte.

Eine wichtige Bestätigung für die Spezifität der Färbung erhielten wir durch die unterschiedliche Reaktion in der Gewebeprobe Nr. 14 (Tabelle IX). Im Serum dieser Patientin, einer 24-jährigen Frau mit den klinischen und serologischen Befunden eines systemischen Lupus-erythematoses, konnte die C4A-Komponente, aber nicht die C4B-Komplementkomponente nachgewiesen werden. Ein entsprechendes Ergebnis zeigte die immunhistologische Untersuchung des Nierengewebes: Während offenbar die mesangialen Bereiche der Glomeruli mit dem Anti-C4A-Antikörper eine deutlich positive Reaktion zeigten, blieb eine Anfärbung dieser Areale mit dem MoAk Anti-C4B aus.

Ein vom üblichen Reaktionsmuster abweichendes Verteilungsmuster zeigte auch das Gewebe, das im Sinne einer perimembranösen Glomerulonephritis verändert war: In Analogie zu den immunhistologischen Befunden konnte in diesem Fall C4 entlang der peripheren Kapillarschlingen im Glomerulus nachgewiesen werden (siehe Abb. 15).

Im Falle einer zellulären Abstoßungsreaktion war die C4B-Expression nicht nur auf die kleinen Arteriolen im Interstitium beschränkt, sondern zeigte sich auf allen im Gewebeschnitt befindlichen Gefäßen. Dieser Befund stand im Einklang mit dem Ergebnis der Routineimmunhistologie.

TABELLE IX

Übersicht über pathologische, immunhistologische und immunhistochemische Befunde des mit Anti-C4A und/oder Anti-C4B untersuchten Nierengewebes

Patient.- Gewebe	Path.Diag.	Immunhistologischer Befund							C4A	C4B
		IgA	IgG	IgM	C3	C4	Fibrin			
1	MC	-	-	+	+	-	-			+
2	MC	-	-	+	-	-	-			+
3	MC	+	-	-	-	-	-			+
4	MC	-	-	+	-	-	-			+
5	MC	-	+	-	+	+	-	++		
6	MC	-	-	+	+	-	-	+		
7	MESGN	+	-	+	-	-	-			+
8	MESGN	+	-	-	+	-	-			+
9	MESGN	+	-	-	+	-	+			+
10	MESGN	-	-	+	-	-	-	+		+
11	MESGN	+	+	+	+	-	-	+		
12	MESGN	-	-	-	+	-	-			+
13	MESGN	+	-	-	+	-	-	+		
14	SLE	+	-	-	-	-	-	+		+
15	SLE	+	-	-	-	-	-	+		+
16	PMGN	-	+	+	+	-	-			++
17	PMGN	-	+	-	+	+	-			++
18	CGN	-	-	+	-	-	-			+
19	Abstoßung	-	-	+	+	+	-			+0
20	hereditäre Nephropathie	-	-	-	-	-	-	+		+
21	PIGN	+	+	-	+	-	-	+		+
22	Transplan- tatniere	-	-	-	-	-	-			+

Lg.: MC = minimal-change-Nephritis; MESGN = mesangioproliferative GN;
 PMGN = perimembranöse GN; PIGN = postinfektiöse GN; CGN = chronische GN;
 + = Reaktion im mesangialen Bereich des Glomerulus;
 ++ = Reaktion entlang der peripheren Kapillarschlingen;
 +0 = 'mesangiale Reaktion' und Reaktion an Gefäßen im Interstitium.

D. DISKUSSION

Die Glomerulusschädigung im Rahmen einer Glomerulonephritis ist als Folge eines abgelaufenen Entzündungsprozesses aufzufassen. Hierbei kommt vermutlich auch der Interaktion ortständiger Zellen untereinander und/oder mit infiltrierenden Entzündungszellen eine pathogenetische Bedeutung zu. Es sollte daher in vorliegender Arbeit folgenden Fragen nachgegangen werden: Inwieweit sind Leukozyteninfiltrate im Nierengewebe von Patienten mit Glomerulonephritis typisch ?

Welche charakteristischen Zellpopulationen sind nachweisbar und welche gewebeschädigenden Mechanismen sind damit denkbar ?

Es konnte gezeigt werden, daß im wesentlichen T-Lymphozyten und Makrophagen das Nierengewebe infiltrieren.

Proliferation und Differenzierung sind die Voraussetzung für stimulierte T-Lymphozyten, um über ihre zwei wesentlichen Effektormechanismen wirken zu können: Zum einen die kontaktvermittelte Zytotoxizität und zum anderen die Sekretion biologisch aktiver Faktoren, sogenannter Lymphokine: T-Lymphozyten wandeln sich in zytotoxische T-Zellen um, die nach direktem Kontakt mit der Targetzelle zu deren Zerstörung führen.

Lymphokine, Sekretionsprodukte stimulierter T-Lymphozyten, modulieren das Verhalten anderer Zellen, insbesondere die Bewegung und Aktivierung von Makrophagen.

Speziell für die pathologischen Vorgänge im Nierengewebe konnten zahlreiche Anhaltspunkte für die wichtige Rolle von Makrophagen gefunden werden. In der Pathogenese hyperzellulärer Glomeruli wurde ihnen besondere Bedeutung beigemessen (16, 39): An isolierten Glomeruluszellen konnte nachgewiesen werden, daß die Produkte aktivierter Makrophagen sowohl Mesangialzellen als auch viszerale Epithelzellen zur Proliferation anregen konnten (1). Hierbei wird Interleukin I als Mediator diskutiert (32). Andere Makrophagenprodukte sollen für eine erhöhte Kapillarpermeabilität und damit auch eine Begründung für die beobachtete Korrelation zwischen dem Nachweis intraglomerulärer Makrophagen und erhöhter Eiweißausscheidung im Urin sein (27).

Weder der Ursprung glomerulärer Zellen in hyperzellulären Glomeruli noch die pathologischen Effekte dieser Zellen konnten bisher auf rein morphologischer Basis bestimmt werden. Atkins et al (2) beobachteten in den Glomeruli von Patienten mit proliferativer Glomerulonephritis Zellen, die hinsichtlich morphologischer Kriterien und Phagozytosefähigkeit Makrophagen ähnelten. Demgegenüber führten elektronenmikroskopische Untersuchungen durch Bradfield und Catell (6) zu dem Ergebnis, daß hyperzelluläre Glomeruli hauptsächlich durch Proliferation ortsständiger Zellen entstehen. Keine der angewandten Techniken erlaubte eine exakte Identifikation der beteiligten Zellpopulationen, nicht zuletzt, weil es keine definitiven ultrastrukturellen Kriterien für die Unterscheidung von Makrophagen und glomerulären Zellen - insbesondere Mesangialzellen - gibt. Bei der Überwindung dieser Schwierigkeiten stellt der Einsatz monoklonaler Antikörper zur genauen Identifikation und Charakterisierung dieser Zellen eine elegante Methode dar.

Die Untersucher konnten mit Hilfe des monoklonalen Antikörpers Leu M3 eine Zellpopulation im Glomerulus als Makrophagen identifizieren. Diese Reaktion war auf Glomeruli im proliferativ veränderten Nierengewebe beschränkt.

Der Nachweis intraglomerulärer Makrophagen kann sowohl Ausdruck humoral als auch zellulär gesteuerter Immunmechanismen sein:

Die einfachste Annahme ist, daß Makrophagen als unspezifische Antwort in vorgeschädigte Glomeruli einwandern. Dies kann nicht ausgeschlossen werden, wenn auch in Tierversuchen eine Korrelation zwischen dem Ausmaß glomerulärer Schädigung und der Makrophagenanzahl nicht gefunden werden konnte.

Ein zweiter vorstellbarer Mechanismus ist die chemotaktisch gesteuerte Makrophageninfiltration als Reaktion auf Komplementaktivierung und Fibrin-deposition innerhalb des Glomerulus. Hinweisend hierauf wäre der häufig gemeinsame Nachweis von intraglomerulären Makrophagen, Komplement und Immunglobulinablagerungen. Komplementfaktoren könnten direkt stimulierend wirken oder aber indirekt als Folge eines anderen komplexeren Mechanismus.

Bei diesen Überlegungen ist allerdings zu berücksichtigen, daß im Tierversuch durch Dekomplementation Makrophagenansammlungen nicht verhindert werden konnten (29).

Eine besonders interessante Vorstellung ist die der chemotaktischen Interaktion zwischen T-Lymphozyten und monozytären Zellen: Im Rahmen einer zellvermittelten Immunantwort, die sich gegen intraglomerulär gebundene Antigene richtet, können Makrophagen durch T-Lymphozyten-Produkte aktiviert und chemotaktisch angezogen werden.

Auch weisen unsere Untersuchungsergebnisse eher auf eine Bedeutung von Lymphokinen als auf zytotoxische T-Zell-Mechanismen bei der Glomerulonephritis-Entstehung hin.

Das völlige Fehlen T-811-positiver Zellen in den Glomeruli aller untersuchten Gewebe, unabhängig von der zugrundeliegenden histopathologischen Veränderung, macht die Zellzerstörung durch zytotoxische T-Lymphozyten nicht sehr wahrscheinlich. Eine deutliche Dominanz dieser Zellen war auch nicht im lymphozyteninfiltrierten Interstitium nachweisbar. Dieses Resultat steht in einem gewissen Gegensatz zu den Untersuchungsergebnissen anderer Autoren, die zumindest für Lupus-erythematoses-Nephritis-Gewebe ein eindeutiges Überwiegen zytotoxischer T-Lymphozyten nachweisen konnten (12).

Bei der quantitativen Analyse infiltrierender T-Lymphozyten war weiterhin aufgefallen, daß die Summe zytotoxischer/Suppressor- und T-Helfer-Lymphozyten häufig die Zahl der durch den Pan-T-Zell-Antikörper erfaßten Zellen überstieg.

Die Gründe hierfür mögen zum einen methodisch bedingt sein, zum anderen aber auch durch die schon von anderen Untersuchern gemachte Beobachtung, daß ein großer Teil monozytärer Zellen ebenfalls T4-Antigen exprimieren.

Unerwartet war die geringe Lymphozyteninfiltration und der fast fehlende Makrophagennachweis im Gewebe von Patienten mit Minimal-change-Nephritis. Denn gerade für die Pathogenese dieser Glomerulonephritisform wurden zelluläre Mechanismen zuerst diskutiert (19, 51). Dies liegt in einer Reihe empirischer Beobachtungen und experimenteller Untersuchungsergebnisse begründet: Trotz klinisch manifester Nierenfunktionsstörungen sind die histopathologischen Veränderungen diskret, und immunhistologisch sind weder regelmäßig Immunkomplex- noch Komplementablagerungen nachweisbar.

Die therapeutische Wirksamkeit von Steroiden und Cyclophosphamid (8) immunsuppressiven Medikamenten wurde als weiteres Indiz für zelluläre Einflüsse gewertet, zumal gezeigt werden konnte, daß Remissionen nach Cyclophosphamid-Gabe scheinbar auf eine Reduktion von T-Suppressor-Zellen zurückzuführen waren (55).

In Übereinstimmung mit den Untersuchungsergebnissen anderer Autoren ergaben die Identifikation und Lokalisation immunkompetenter Zellen im Minimal-change-Nephritis-Gewebe keine direkten Anhaltspunkte auf eine pathogenetische Bedeutung.

Weiterhin ist beachtenswert, daß regelmäßig der monoklonale Antikörper T29/33 mit Zellen reagiert, die unmittelbar der Bowman-Kapsel anliegen. In Analogie zu unseren Beobachtungen sind in der Mausniere an dieser Stelle Makrophagen identifiziert worden, deren Funktion noch unklar ist.

Abschließend muß betont werden, daß allein durch Phänotypisierung nicht auf eine Zellfunktion geschlossen werden kann und darf. Sinnvoll wäre jetzt die Isolation dieser Zellen und ihre Charakterisierung in funktionellen Tests in vitro.

Mit dem Nachweis einer der diskutierten Funktionen wurde der Einsatz monoklonaler Antikörper nicht nur in der Therapie transplantierte Patienten, sondern auch der Glomerulonephritis-Patienten klinisch relevant. Tierexperimentell konnte bereits eine Besserung klinischer Symptome und histopathologische Veränderungen durch den Einsatz von Anti-makrophagenseren demonstriert werden (28).

Neben Makrophagen und T-Lymphozyten sind bei der Steuerung von Immunreaktionen Histokompatibilitätsantigene von besonderer Bedeutung (31). Sie wirken im wesentlichen über die Stimulierung von T-Lymphozyten: Diese sollen fremdes Antigen auf antigenpräsentierenden Zellen nur im Zusammenhang mit den korrespondierenden Histokompatibilitätsantigenen erkennen, wobei zytotoxische T-Lymphozyten mit Antigenen der Klasse I und T-Helfer-Zellen mit Antigenen der Klasse II reagieren (14,37).

HLA-DR- und HLA-DQ-Antigene, sogenannte Klasse-II-Antigene, sind Produkte der HLA-D-Region assoziierten Gene: HLA-DR-Antigene werden auf B-Lymphozyten, aktivierten T-Zellen, Makrophagen und anderen Antigenen präsentierenden Zellen gefunden (17, 41, 11).

Ihre Expression ist auch auf nichtlymphatischem Gewebe beschrieben, wobei über ihre Funktion hierbei Unklarheit herrscht (62).

Die Analyse der Expression von HLA-DR-Antigenen ergibt zusätzliche Gesichtspunkte für die Beurteilung immunologischer Vorgänge im Nierengewebe-

Zum einen waren HLA-DR-Antigene auf allen infiltrierenden, immunkompetenten Zellen nachweisbar, was auf einen erhöhten Aktivitätszustand der beteiligten Lymphozyten schließen läßt und den monozytären Ursprung interstitiell und intraglomerulär nachgewiesener Leukozyten zusätzlich bestätigt.

Zum anderen wurden diese Antigene nicht nur von immunkompetenten Zellen, sondern auch von parenchymalen Strukturen in unterschiedlich stark ausgeprägter Weise exprimiert. Einheitlich konnte der Nachweis von HLA-DR-Antigenen auf intraglomerulären Endothelzellen und Epithelzellen sowie auf Parenchymalzellen im peritubulären Interstitium geführt werden. Dieses Ergebnis stimmt mit den bisher über dieses Thema veröffentlichten Daten überein (59, 21).

Dagegen war die Antigenexpression auf Tubulusepithelzellen uneinheitlich, d.h., daß in einem Teil des Gewebematerials die Tubuluszellen eine deutliche Reaktion mit dem monoklonalen Antikörper L243 zeigten, während auf entsprechenden Zellen in anderen Gewebeschnitten dieses Histokompatibilitätsantigen nicht nachweisbar war.

Entsprechend vielfältig sind die zu diesem Thema bisher veröffentlichten Beobachtungen: In einigen Untersuchungen, die vor allen Dingen im Rahmen der Transplantationsimmunologie durchgeführt wurden, konnten HLA-DR-Antigene auf Tubulusepithelzellen entweder gar nicht oder nur sehr schwach auf proximalen Tubuli nachgewiesen werden.

Hall et al (24) konnten eine Korrelation zwischen gesteigerter HLA-DR-Expression auf Tubuluszellen und Stärke der Transplantatsabstoßungsantwort, gemessen an der Stärke des zellulären Infiltrates, feststellen.

Dementsprechend war in dem durch uns untersuchten Nierengewebe auffällig, daß eine stärkere HLA-DR-Antigen Expression auf Tubuluszellen mit dem gleichzeitigen Auftreten von Leukozyteninfiltraten verbunden war. In zahlreichen Arbeiten (35, 4, 13, 9, 25) wurde inzwischen darauf hingewiesen, daß die Expression dieser Histokompatibilitätsantigene durch immunologische Vorgänge induzierbar ist. So konnten z.B. HLA-DR-Antigene auf Gallengangsepithelien im Gewebe von Patienten mit primärer biliärer Zirrhose demonstriert werden, die normalerweise HLA-DR-negativ sind (3).

Als Mediator einer solchen Induktion wird Gamma-Interferon, ein Produkt aktivierter T-Lymphozyten, diskutiert (47).

Auch im Schilddrüsengewebe wurde eine aberrante DR-Antigenexpression auf Thyrozyten nachgewiesen (26), die aber nicht mit infiltrierenden T-Lymphozyten in Zusammenhang gebracht werden konnte, sondern mit dem Ausmaß der Gewebeschädigung korreliert schien.

An einen solchen Zusammenhang muß auch bei der unterschiedlichen Reaktion der Tubuluszellen gedacht werden, da offensichtlich der Schweregrad histologischer Veränderungen mit der Stärke des zellulären Infiltrates korreliert war.

Mit der Expression von Histokompatibilitätsantigenen ist die Möglichkeit zur Antigenpräsentation verbunden (58), was die genannten Strukturen aber auch verwundbar für die Effektormechanismen anderer Zellen werden läßt.

Eine alternative Erklärung für die unterschiedliche Reaktion der Tubuli ist die genetische Determination.

Untersuchungen an Ratten weisen darauf hin, daß die tubuläre HLA-DR-Expression unter genetischer Kontrolle steht (21).

Unabhängig vom zugrundeliegenden Mechanismus ist die Expression dieser Antigene auf Tubuluszellen als Zeichen erhöhter Immunogenität zu werten, der nicht nur in der Transplantationsimmunologie, sondern auch im Verlauf entzündlicher Nierenerkrankungen eine entscheidende Bedeutung zukommen kann.

Während HLA-DR-Antigene hinsichtlich ihrer Lokalisation in verschiedenen Geweben und ihrer Funktion Gegenstand zahlreicher Untersuchungen waren, ist über HLA-DQ-Antigene wenig bekannt. Die Lokalisation dieser Moleküle im Nierengewebe verdeutlicht, daß es sich hierbei um vom HLA-DR-Locus unterschiedliche Genprodukte handelt.

Gegenüber der Expression von HLA-DR-Antigenen ist die Expression von HLA-DQ-Antigenen deutlich eingeschränkt. Die Reaktion des monoklonalen Antikörpers Tü-22 schließt die Zellen des Nierenparenchyms nicht mit ein, sondern ist auf infiltrierende Leukozyten beschränkt.

Rein morphologisch ähnelten diese Zellen Makrophagen. Sie reagierten auch mit den Antikörpern T29/33 und L243. Die gemeinsame Expression zweier verschiedener Histokompatibilitätsantigene, HLA-DR und HLA-DQ, ist schon von anderen Autoren auf einer Subpopulation von Makrophagen nachgewiesen worden (23).

Wenn auch über die Funktion solcher Zellen Unklarheit herrscht, ist ihre Beteiligung bei der Präsentation verschiedenster Fremdanigene wahrscheinlich. Hierfür gibt es in neueren Arbeiten bereits Hinweise (22).

Das vielleicht überraschendste Ergebnis der vorliegenden Arbeit war der regelmäßige Nachweis der Komplementkomponente C4 in den Glomeruli aller untersuchten Nierengewebe. Die vierte Komplementkomponente ist am Weg der klassischen Komplementaktivierung beteiligt und kann auf diesem Wege als Mediator bei zahlreichen immunologischen Reaktionen wirksam sein. Wie am Anfang der Arbeit bereits angedeutet, weisen neuere Arbeiten auf einen Zusammenhang zwischen spezifischen C4-Allelen und bestimmten Nierenerkrankungen hin (60, 53). Ebenso konnte das Fehlen von Genprodukten mit Krankheitsbildern wie z.B. der IgA-Nephropathie und systemischen Lupus-erythematodes assoziiert werden (61).

Die Möglichkeit, die Produkte der Genloci C4A und C4B mit Hilfe monoklonaler Antikörper direkt im Gewebe unabhängig voneinander nachzuweisen, erweitert und erleichtert den Nachweis bestimmter C4-Defizienzen.

Unerwartet, weil in einem gewissen Gegensatz zu den Ergebnissen mit heterologen Antiseren stehend, war der regelmäßige Nachweis von C4 in den Glomerul.

von Normalnieren.

Dies wirft zunächst die Frage nach der Spezifität der Farbreaktion auf. Hierfür spricht, daß im Gewebe der Patientin mit SLE das C4B-Genprodukt nicht nachgewiesen werden konnte. Das Fehlen von C4B-Genprodukten konnte in diesem Fall auch serologisch bestätigt werden. Solche partiellen Defizienzen sind nach Abschluß der hier dargestellten Arbeiten noch häufiger gefunden worden.

Als weiteres Indiz kann das deutlich unterschiedliche Reaktionsmuster in den verschiedenen Geweben gewertet werden: Während es sich in der überwiegenden Anzahl der Präparate eindrucksmäßig um eine Reaktion im Bereich der Mesangialzellen handelte, war im Gewebe der Patienten mit perimembranöser Glomerulonephritis, in Übereinstimmung mit der Reaktion heterologer Antiseren, die für dieses Krankheitsbild typische C4-Ablagerung entlang der intraglomerulären Kapillaren klar erkennbar.

Mit der eingesetzten Methode konnte keine Entscheidung über den Ursprung des nachgewiesenen Komplements getroffen werden.

Eine der möglichen Erklärungen für Komplementablagerungen im erkrankten Gewebe könnte sein, daß das Komplement zusammen mit Immunkomplexen an Ort und Stelle gelangt.

Hiergegen spricht nicht nur der C4-Nachweis in Normalnieren, sondern auch die Tatsache, daß C4 in entzündlich veränderten Geweben nachgewiesen werden konnte, deren routinemäßig durchgeführte immunhistologische Untersuchungen auf Immunkomplexablagerungen negativ ausgefallen waren.

Durchaus denkbar wäre aber auch die Synthese von Komplement durch Zellen des Nierengewebes, wie sie z.B. für Leberparenchymzellen nachgewiesen werden konnte (56). Der Abklärung dieser Frage wird zwischenzeitlich mit dem Versuch des Nachweises von m-RNA für C4 im Nierengewebe nachgegangen.

Einer weiteren Erklärung bedarf die Tatsache, daß C4 mit konventionellen polyvalenten heterologen Antiseren nicht sichtbar gemacht werden konnte.

Heterologe Anti-C4-Seren konnten die Bindung der monoklonalen Antikörper nicht blocken (unveröffentlichte Beobachtung).

Dies kann auch bedeuten, daß diese monoklonalen Antikörper andere, von heterologen Seren nicht erfaßbare Epitope erkennen.

Der Nachweis von C4 im normalen Glomerulus ist von besonderer Bedeutung. Er stellt die Effizienz heterologer Antiseren in Diagnostik und Interpretation der Glomerulonephritiden in Frage und regt an, über ganz neue Pathogenitätsmechanismen bei Autoimmunerkrankungen nachzudenken.

E. ZUSAMMENFASSUNG

In der Pathogenese von Glomerulonephritiden werden zellulären Immunmechanismen zunehmend Bedeutung geschenkt. Deshalb wurden in der vorliegenden Arbeit immunkompetente Zellen durch Oberflächenantigene mit monoklonalen Antikörpern näher charakterisiert. Hierdurch konnte gezeigt werden, daß im wesentlichen T-Lymphozyten und Makrophagen das Nierengewebe infiltrieren. Auffallend waren periglomeruläre T-Lymphozyteninfiltrate und die intraglomeruläre Präsenz von Makrophagen bei Patienten mit mesangioproliferativer Glomerulonephritis.

HLA-DR-Antigene wurden auf allen infiltrierenden Zellen nachgewiesen. Darüber hinaus reagierte auch das Nierenparenchym, d.h. Endothelzellen intraglomerulärer und interstitieller Gefäße, Mesangialzellen und interstitielle Parenchymzellen mit dem MoAk L243. Die Reaktion der Tubulusepithelzellen war uneinheitlich.

Der HLA-DQ-Antikörper zeigte keine Reaktion mit dem Nierenparenchym, sondern markierte hauptsächlich im Interstitium gelegene immunkompetente Zellen.

Die Komplementkomponente C4 wurde in den Glomeruli der Normalniere und des entzündlich veränderten Gewebes nachgewiesen. Letzteres stand im Widerspruch zu den Ergebnissen der routinemäßig durchgeführten immunhistologischen Untersuchungen.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. Atkins, R.C., Glasgow, E.F., Holdsworth, S.R., Thomson, N.M., Hancock, W.W.
Tissue culture of isolated glomeruli from patients with glomerulonephritis
Kidney International, 17, 515 (1980)
2. Atkins, R.C., Hyncock, W.W., Stow, J., Becker, G.J., Thompson, N.M., Glasgow, E.F.
Macrophage identification in human and experimental glomerulonephritis in Proc 8th Int.Cong. of Nephrol. edited by Zurukzoglul, W., Papadimitriou, M., Pyrpasopoulos, M., Sion, M., Zamboulis, T., Basel, Karger, pp. 865 - 871 (1981)
3. Ballardini, G., Bianchini, F.B., Doniach, D., Mirakian, R., Pisi, E., Botazzo, G.F.
Aberant expression of HLA-DR-antigens on bileduct epithelium in primary biliary cirrhosis: relevance to pathogenesis
Lancet 2, 1009-1013 (1984)
4. Barclay, A.N., Mason, D.W.
Induction of Ia antigen in rat epidermal cells and gut epithelium by immunological stimuli
J. Exp.Med. 156, 1665-1676 (1982)
5. Bhan, A.K., Schneeberger, E.E., Collins, A.B. and Mc Cluskey
Evidence for a pathogenic role of a cell-mediated immune mechanism in experimental glomerulonephritis
J.Exp.Med. 246-259 (1978)
6. Bradfield, J.W.B., and Cattell, V.
The mesangial cell in glomerulonephritis
I. Mechanisms of hypercellularity in experimental immune complex glomerulonephritis
Lab.Invest. 36, 481 (1977)
7. Burger, R., Deubel, U., Hadding, V., Bitter-Suermann, D.
Identification of functionally relevant determinants on the complement component C3 with monoclonal antibodies
J. Immunol., 129, 2042-2050 (1982)

8. Cameron, J.S., Chantler, C., Ogg, C.S., White, R.H.R.
Long-term stability of remission in nephrotic syndrome after
treatment with cyclophosphamide
Br.med.J. 4.7 (1974)
9. Cerf-Bensussan, N., Quaroni, A., Kurnick, J.T., and Bhan, A.K.
Intraepithelial lymphocytes modulate Ia expression by
intestinal epithelial cells
J.Immunol. 132, 2244-2252 (1984)
10. Chan, A.C., Karp, D.R., Schreffler, D.C., and Atkinson, J.P.
The 20 faces of the fourth component of complement
Immunology Vol. 5, No. 7, 200-203 (1984)
11. Charron, D.J.
Ia antigens on human lymphocytes: cellular expression and molecular
structure, an overview
Immunol. Commun. 10, 293-311 (1981)
12. D'Agati, V., Appel, G., Knowles, D., Ester, D., Pirani, C.
Monoclonal antibody (Mab) identification of mononuclear cells
in renal biopsies of lupus nephritis (L.N.)
Kidney International 25, 223 (1984)
13. Daynes, R.A., Emam, M., Kruger, G.G., and Roberts, L.K.
Expression of Ia antigen on epidermal keratinocytes after the
grafting of normal skins to nude mice
J. Immunol., 130, 1536 - 1539 (1983)
14. Dickmeiss, E., Soeberg, B., and Svejgaard, A.
Human cellmediated cytotoxicity against modified target cells
is restricted bei HLA
Nature, 270, 526-528 (1977)
15. Dimitriu-Bona, A., Burmester, G.R., Waters, S.J., and Winchester, R.J.
Human mononuclear phagocyte differentiation antigens. I. Patterns of
antigenic expression on the surface of human monocytes and macro-
phages defined by monoclonal antibodies
J. Immunol. 130, 145 - 152 (1983)

16. Dubois, CH., Foidart, J.B., Harker, M.B., Dechenne, C.A., Lemaire, M.J., Mahieu, P.R.
Proliferative glomerulonephritis in rats: evidence that mononuclear phagocytes infiltrating the glomeruli stimulate the proliferation of endothelial and mesangial cells
Eur. J. Clin. Invest., 11, 91 - 104 (1981)
17. Evans, R.L., Faldette, T.J., Humphreys, R.E., Pratt, D.M., Yanis, E.J., and Schlossman, S.F.
Peripheral human T cells sensitized in mixed leucocyte culture synthesize and express Ia-like antigens
J. exp. Med., 148, 1440-1445 (1978)
18. Evans, R.L., Wall, D.W., Platsoucas, C.D., Siegal, F.P., Fikrig, S.M., Testa, C.M., and Good, R.A.
Thymus dependent membrane antigens in man: Inhibition of cell-mediated lympholysis by monoclonal antigens to Th2 antigen
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 78, 544 - 548 (1981)
19. Eyres, K., Mallick, N.P., Taylor, G.
Evidence for cell-mediated immunity to renal antigens in minimal change nephrotic syndrome
Lancet, i, 1158 - 1159 (1976)
20. Ferrario, F., Castiglione, A., Colasanti, G., Barbiano di Belgioioso, G., Bertoli, S., and D'Amico, G.
The detection of monocytes in human glomerulonephritis
Kidney International 28, 513 - 519 (1985)
21. Fuggle, S.V., Errasti, P., Daar, A.S. Fabre, J.W., Ting, A., and Morris, P.J.
Localization of the major histocompatibility complex (HLA-ABC and DR antigens in 46 kidneys)
Transplantation, 35, 385 - 390 (1983)
22. Gonwa, T., Picker, L., Raff, H., Goyer, S.M., Silver, J., and Stobo, J.
Antigen-presenting capabilities of human monocytes correlates with their expression of HLA-DS, an IA determinant distinct from HLA-DR
J. Immunol. 130, 706 - 711 (1983)
23. Gonwa, T.A., Stobo, J.D.
Differential Expression of Ia Molecules by human monocytes
American Society for Clinical Investigation 74, 859 - 866 (1984)

24. Hall, B.M., Duggin, G.G., Philips, J., Bishop, G.A., Horvarth, J.S., Tiller, D.J.,
Increased expression of HLA-DR antigens on renal tubular cells in renal transplants
Relevance to the rejection response
Lancet 1, 247 - 250 (1984)
25. Halloran, P., Wudgyrnar, A., Urmson, J., Farkas, S., Delovitch, T., Autenried, P.
Expression of class I and II major histocompatibility complex products in kidney cells is increased by immunologic stimuli
Transplantation Proc. 17, 978 - 979 (1985)
26. Hanafusa, T., Chiovaro, L., Doniach, D., Pujal-Borrell, R., Russell, R.C. and Botazzo, G.F.
Aberrant expression of HLA-DR antigen on thyrocytes in Graves' disease: Relevance for autoimmunity
Lancet 2, 1111 - 1115 (1983)
27. Holdsworth, S.R., Neale, T.J., Wilson, C.B.
Abrogation of macrophage-dependent injury in experimental glomerulonephritis in the rabbit by use of an antimacrophage serum
J. Clin. Invest. 68, 686 - 688 (1981)
28. Holdsworth, S.R., Neale, T.J., Wilson, C.B.
Fc dependence of macrophage accumulation and subsequent injury in experimental glomerulonephritis
J. Immunol. 130, 735 - 739 (1983)
29. Holdsworth, S.R., Neale, T.J., and Wilson, C.B.
The participation of macrophages and monocytes in experimental immune complexes glomerulonephritis
Clin. Immunol. Immunopathol. 15, 510 - 524 (1980)
30. Heinz, H.P., Burger, R., Golan, M.D., and Loos, M.
Activation of the first component of complement, C1, by a monoclonal antibody recognizing the Chain of C1q
J. Immunol. 132, 804 - 808 (1984)
31. Kaufman, J.F., Auffray, C., Korman, A.J., Shachelford, D.A., and Strominger, J.
The class II molecules of the human and murine major histocompatibility complex
Cell 36, 1 - 13 (1984)

32. Killen, P.D., Melcion, C., Bonadio, I., Morel-Maroger, L., and Striker, G.E.
Glomerular response to immunologic injury, Studies on Progression
Springer Semin Immunopathol. 5, 297 - 320 (1982)
33. Köhler, G., and Milstein, C.
Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity
Nature 256, 495 - 497 (1975)
34. Lampson, L.A., and Levy, R.
Two populations of Ia-like molecules on a human B cell line
J. Immunol. 125, 293 - 299 (1980)
35. Mason, D.W., Dallmann, M., Barclay, A.N.
Graft-versus-host-disease induces expression of Ia-antigen in rat epidermal cells and gut epithelium
Nature 293, 150 - 151 (1981)
36. Mc Lean, R.H., Wyatt, R.J., and Julian, B.A.
Inherited deficiency of the fourth component (C4) in IgA nephropathy, Henoch-Schönlein-purpura and recurrent Hematuria
Kidney International 21, 202 (1982)
37. Meuer, S.C., Schlossmann, S.F., and Reinherz, E.L.
Clonal analysis of human cytotoxic T-lymphocytes T4+ and T8+ effector T cells recognize products of different major histocompatibility complex regions
Proc. nat., Acad. Sci. (Wash.) 79, 4395 - 4399 (1982)
38. Monga, G., Mazzucco, G., Barbiano di Belgioioso, G., Busnach, G.
Monocyte infiltration and glomerular hypercellularity in human acute and persistens glomerulonephritis
Light and electron microscopic, immunofluorescence and histochemical investigation on twenty-eight-cases
Lab. Invest. 44, 381 - 387 (1981)
39. Monga, G., Mazzucco, G., Barbiano die Belgioioso, G., Busnach G.
The presence and possible role of monocyte infiltration in human chronic proliferative glomerulonephritides
Am. J. Pathol 94, 271 - 284 (1979)

40. Nagata, K., Platt, J.L., and Michael, A.F.
Interstitial and glomerular immune cell populations in idiopathic nephrotic syndrome
Kidney International, Vol. 25, 88 - 93 (1984)
41. Nussenzweig, M.C., Steinman, R.M., Unkeless, J.C., Witmer, M.D., Gutchinow, B., and Cohn, Z.A.
Studies of the cell surface of mouse dendritic cells and other leucocytes
J. exp. Med. 154, 168 - 187 (1981)
42. Omary, M.B., Trowbridge, J.S., and Battifora, H.A.
Human homologue of murine T200 glycoprotein
J. exp. Med. 152, 842 - 852 (1980)
43. O'Neill, G.J., Yang, S.Y., Dupont, B.
Two HLA-linked loci controlling the fourth component of human complement
Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 75, 5165 - 5169 (1978)
44. O'Neill, G.J.
C4 Polymorphism: Use of a monoclonal antibody to distinguish C4A and C4B locus products
Vox Sang 47, 362 - 365 (1984)
45. Pawelec, G.P., Shaw, S., Ziegler, A., Müller, C., and Wernet, P.
Differential inhibition of HLA-D or SB-directed secondary lymphoproliferative responses with monoclonal antibodies detecting human Ia-like determinants
J. Immunol. 129, 1070 - 1075 (1982)
46. Pober, J.S., Gimbrone, M.A., Cotran, R.S., Reiss, C.S., Burakoff, S.J., Fiers, W., and Ault, K.A.
Ia expression by vascular endothelium is inducible by activated cells and by human gamma-interferon
J. exp. Med. 157, 1339 - 1353 (1983)
47. Rieber, P., Lohmeyer, J., Schendel, D.J., Riethmüller, G.
Human T-cell differentiation antigens characterizing a cytotoxic/suppressor T-cell subset
Hybridoma 1, 59 - 69 (1981)

48. Rieber, P., Rank, G., Wirth, S., Wilhelm, M., Kopp, E., and Riethmüller G.
Modulation of T cell functions by monoclonal 'Pan T cell' antibodies not directed against the T-c 11-receptor
In: Reinherz, E.L., Haynes, B.F., Nadler, L.M., Bernstein, I.D. (ed.)
Leucocyte typing II, Vol. 1, Human T-Lymphocytes,
pp. 233 - 242, Springer-Verlag, Berlin 1986
49. Schifferli, I.A., Ng, Y.C., Peters, D.K.
The role of complement and its receptor in the elimination of immune complexes
N. Engl J Med 315, 488 - 495 (1986)
50. Schreiner, G.F., Kiely, J.M., Cotran, R.S. Unanue, E.R.
Characterization of resident glomerular cells in the rat expressing Ia determinants and manifesting genetically restricted interactions with lymphocytes
J.Clin. Invest. 68, 920 - 931 (1981)
51. Shaloub, R.J.
Pathogenesis of lipoid nephrosis. A disorder of T-cell-Function
Lancet II, 556 - 560 (1974)
52. Shigematsu, H., Shishdo, H. Kumara, K., Tsuchida, H., Suzuki, H., Hirose, K., Tojo, S.
Participation of monocytes in transient glomerular hypercellularity in poststreptococcal glomerulonephritis
Virchows Arch (Cell Pathol) 12, 367 - 370 (1973)
53. Sim, E., Gill, E.W., Sim, R.B.
Drugs that induce systemic lupus erythematosus inhibit complement component C4
Lancet II, 422 - 424 (1984)
54. Stachura, J., Si, L., Madan, E., and Whiteside, T.
Mononuclear cell subsets in human renal disease
Enumeration in Tissue sections with monoclonal antibodies
Clinical Immunology and Immunopathology 30, 362 - 373 (1984)
55. Taube, D., Brown, Z., Williams, D.G.
Long Term impairment of suppressor T-cell function by cyclophosphamid in minimal-change-nephropathy and its association with therapeutic response
Lancet I, 235 - 238 (1981)

56. Thorbecke, G.J., Hochwald, G.M., van Furth, R., Müller-Eberhard, H.J., Jacobson, E.B.

Problems in determining the sites of synthesis of complement components

Wolstenholme, G.E.W. : Knight, J., eds. Ciba Symposium 'Complement'
London: J.A. Churchill Ltd.; 1965: 99 - 119

57. Tomizawa, S., Suzuki, S., Oguri, M., and Kuroume, T.

Studies of T-lymphocyte function and inhibitory factors in
minimal change nephrotic syndrome

Nephron 24, 179 - 182 (1979)

58. Unanue, R., Beller, D., Ki, C., Allen, P.M.

Antigen presentation: Comments on its regulations and mechanism

J. Immunol. 132, 1 - 5 (1984)

59. von Willebrand, E., Lautenschlager, J. Inkinen, K., Lehto, V.-P., Virtanen, J., Häyry, P.

Distribution of the major histocompatibility complex antigens
in human and rat kidneys

Kidney International 27, 616 - 621 (1985)

60. Wank, R., O'Neill, G.J., Held, E., Schendel, D.J., Riethmüller, G., Feucht, H.E.

Rare variant of complement C4 is seen in high frequency in patients
with primary glomerulonephritis

Lancet 1, 872 - 874 (1984)

61. Welch, R., Beischel, L., Berry A., Forristal, J. and West, C.D.

The effect of Null C4 alleles on complement function

Clinical Immunology and Immunopathology 34, 316 - 325 (1985)

62. Wiman, K., Curman, B., Forsum, V., Klarenskog, L., Peterson, P.A.

Occurrence of Ia antigens on tissues of non lymphoid origin

Nature 276, 711 - 712 (1978)

63. Ziegler, A., Uchanska-Ziegler, B., Zenthen, J., and Wernet, P.

HLA-antigen expression at the single cell level on an K562x8 cell
hybrid: an analysis with monoclonal antibodies using bacterial
binding assay

Somatic Cell Genet 8, 775 - 789 (1982)

Lebenslauf

Name: Maria-Christina Jung

Geburtsdaten: 11. Oktober 1958, Göttingen

Eltern: Dr. med. Georg-Friedrich Jung,
Luise Jung, geb. Stehle

1965 - 1969: Besuch der Grundschule in Düsseldorf und Kassel

1969 - 1978: Besuch des Wilhelmsgymnasiums in Kassel,
Abschluß mit der Allgemeinen Hochschulreife
im Juni 1978

1978 - 1979: Studium der Rechtswissenschaften in Marburg
und Göttingen

1979 - 1982: Vorklinischer Studienabschnitt in
Ulm und Gießen

1982 - 1986: Klinischer Studienabschnitt in Gießen,
München und Philadelphia
Abschluß mit der ärztlichen Prüfung
im April 1986 in München.

